

**ZUR WIRKUNG VON NORADRENALIN, DB - c - AMP UND GABA AUF
DIE EXTRAZELLULÄRE KALIUMAKTIVITÄT IM VISUELLEN
KORTEX DER KATZE**

Karl-Joachim Zander

1977

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München.
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. D. Ploog.

ZUR WIRKUNG VON NORADRENALIN, DB-c-AMP UND GABA AUF
DIE EXTRAZELLULÄRE KALIUMAKTIVITÄT IM VISUELLEN
KORTEX DER KATZE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Karl-Joachim Zander

aus

Tübingen

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Priv.Do. Dr. med. H.D. Lux

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. K. Thureau

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.7.1977

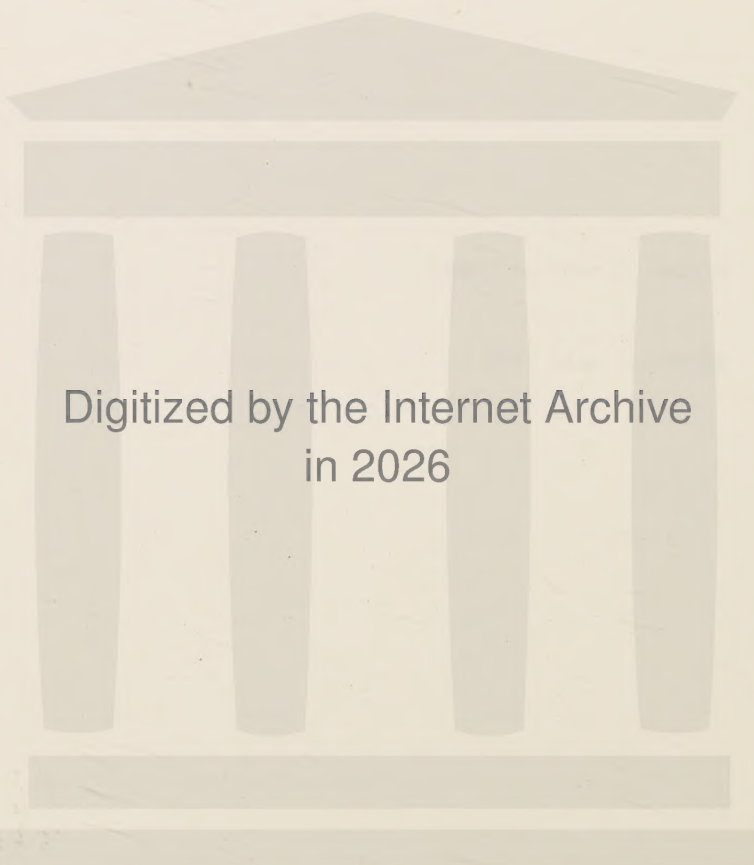


Diese Arbeit wurde 1973 - 1974 in der neurophysiologischen Abteilung des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie in München unter der Leitung von Herrn Priv.Do. Dr. med. H.D. Lux auf seine Anregung hin durchgeführt. Ihm und seinen Mitarbeitern danke ich für vielfache Diskussion und Hilfestellung.

München, Juli 1976

Meinen Eltern gewidmet.

München, Juli 1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552316_0043

1. Einleitung
 - 1.1 Begriffsbestimmungen und Abkürzungen
 - 1.2 Problemstellung und Erwartungen
 - 1.3 Elektrolytregulation
 - 1.3.1 Membrankonzept
 - 1.3.2 Wirkungen chemischer Transmitter
im Membrankonzept
 - 1.3.3 Transport
 - 1.3.4 Kalium
 - 1.4 Neuropharmakologie
 - 1.4.1 Noradrenalin
 - 1.4.2 cyclisches 3'5' Adenosin-Monophosphat
 - 1.4.3 GABA
 - 1.5 Methodische Vorbemerkungen
 - 1.5.1 Kalium-sensitive Elektroden
 - 1.5.2 Mikroiontophorese
2. Methoden
 - 2.1 Tierexperimentelle Angaben
 - 2.2 Elektrodenherstellung
 - 2.2.1 Glasbearbeitung, Form
 - 2.2.2 Reinigung
 - 2.2.3 Siliconisierung
 - 2.2.4 Ionenaustauscher
 - 2.2.5 Testung
 - 2.3 Meßtechnik
 - 2.3.1 Ionensensitive Meßkette
 - 2.4 Versuchsanordnung
 - 2.5 Substanzapplikation
 - 2.5.1 Superfusion

- 2.5.2 Mikroinjektion
- 2.5.3 Mikroiontophorese
- 2.5.3.1 Substanzaufbereitung
- 2.5.3.2 Elektroden
- 2.6 Datenerfassung und Auswertung

3. Ergebnisse

- 3.1 Kinetik der a_{K^+O}
 - 3.1.1 Grundaktivität
 - 3.1.2 Tetanische Reizung
 - 3.1.2.1 Aktivitätszunahme
 - 3.1.2.2 Aktivitätsabnahme
 - 3.1.2.3 Nachschwankungen
 - 3.1.3 Einzelpulsreizung
 - 3.1.4 Kaliumiontophorese
- 3.2 Elektrophysiologische Messungen
 - 3.2.1 Feldpotential
 - 3.2.2 Evozierte Potentiale
 - 3.2.3 Elektrokortikogramm
- 3.3 NE-Wirkungen
 - 3.3.1 Grundaktivität
 - 3.3.2 K^+ -Pulse
 - 3.3.3 STD_{K^+} ("Unterschwing")
- 3.4 c-AMP-Wirkungen
 - 3.4.1 Kaliumaktivitäten
 - 3.4.1.1 K^+ Anstieg und Abfall
 - 3.4.1.2 K^+ Unterschwings
 - 3.4.1.3 K^+ Pulse
- 3.5 Theophyllin-Wirkungen
- 3.6 Kombinationen
- 3.7 GABA

- 4. Diskussion
 - 4.1 Kaliumregulation im Kortex
 - 4.1.1 EEG - Kalium
 - 4.1.2 Kaliumpulse
 - 4.1.3 Kaliumkinetiken
 - 4.1.4 Glia-Kalium
 - 4.1.5 STD_K^+ (Unterschwing)
 - 4.2 Die Transmittereffekte
 - 4.2.1 NE-Kalium
 - 4.2.2 DB-c-AMP - Kalium
 - 4.2.2.1 Theophyllin
 - 4.2.2.2 Calcium
 - 4.3 Transmitter-Transportmechanismen
 - 4.3.1 Kaliumstrom-Kaliumgleichgewichtspotential
 - 4.3.2 Elektrogener Transport
 - 4.3.3 ATPasen
- 5. Zusammenfassung
- 6. Literatur

1.1 Begriffsbestimmungen und Abkürzungen

Adenosin	Ribonukleosid, Grundkörper der Nukleosidphosphate, Transmitterkandidat.
Adenylcyclase	Enzym, das die Bildung von c-AMP aus ATP katalysiert. Phosphat ringartig in 3'5'-Bindung.
Afferenzen.	Synapsen
präterminale A.	axo-axonale Synapse, Synapse an einer Faser kurz vor deren Endknopf
Aktivität (a_{K^+})	wirksame Konzentration eines Salzes
Aktivierung	Zunahme eines Ionenstroms im Erregungsablauf bei membranalener Leitfähigkeitsänderung
Inaktivierung	(nachfolgender) Verlust der membranalen Ionendurchlässigkeit
c-AMP	cyclisches 3'5'-Adenosinmonophosphat
DB-c-AMP	Dibutyryl-cyclo-3'5'-Adenosinmonophosphat
Area 17 - 19	visueller Kortex
Arousal	allgemein: (stimulierte) summierte zentralnervöse Aktivität (EEG) arousal reaction Weckreaktion bei Stimulation in der Formatio reticularis
ATPase	kationenaktiviertes Enzym, ATP-spaltend für energieverbrauchende biologische Vorgänge, gilt als Markerenzym der Ionenpumpe

CGL	Corpus geniculatum laterale (lateral geniculate nucleus), 3. Neuron der Sehbahn
Carriert	hypothetische Trägermoleküle für transmembranalen Transport
synthetische C.	z.B. Valinomycin u.a. Antibiotika in künstlichen Membranen
DC	direct current, Gleichstrom
dense cored vesicles	catecholaminhaltige, synaptische Bläschen
ECOG	Elektrokortikogramm
EEG	Elektroencephalogramm
E_K	Kaliumgleichgewichtspotential
elektrogen	siehe Transport
elektrotonisches Potential	durch biologische Kabeleigenschaften bestimmtes Potential im Umfeld eines erregten Membranortes, passive Ausbreitung von Aktionspotentialen z.B. in Dendriten (Dekrementleitung)
EPSP	exzitatorisches postsynaptisches Potential
FP	Feldpotential, summiertes extrazelluläres Potential
Gleichgesichts-potential	Membranpotential jeder Ionenart, bei dem die Anzahl der in beiden Richtungen durch die Membran diffundierenden Ionen gleich groß ist

GABA	Gamma-Aminobuttersäure
g_K	Kaliumleitfähigkeit der Membran
Hemmung	postsynaptische Wirkung eines Transmitters, gewöhnlich mit Zunahme oder Stabilisierung des Membranpotentials verbunden
Histamin	Transmitterkandidat im ZNS, peripher vorwiegend gefäßwirksam (Allergie!)
Hyperpolarisation	Zunahme des Membranpotentials (der intrazellulären Negativität)
Inhibition(IPSP)	Hemmung; inhib.postsynapt.Potential
I_K	Kaliumstrom (entsprechend auch für andere Ionenströme)
ionensensitive Elektrode	mißt Ionenaktivitäten potentiometrisch
Impedanz	Wechselstromwiderstand, den ein Stromkreis mit dem Ohm'schen Widerstand R, der Induktivität L und der Kapazität c bietet
Interneuron	Zwischen- oder Schaltneurone im ZNS, zwischen afferenten und efferenten Neuronen eingeschaltet
Iontophorese	elektrophoretische Applikation ionisierter Substanzen
Mikroiontophorese	Applikation durch Mikropipetten
K^+	Kalium
K^+ -Puls	kurze iontophoretische Applikation von Kalium

Kathodenfolger	spezielle Schaltung, die besonders als Eingangsstufe der Verstärker bei Ableitung mit Mikroelektroden mit sehr hohem Widerstand verwendet wird
Leckstrom	physiologischer Kaliumverlust in der Zelle unter Ruhebedingungen
Leitfähigkeit	reziproker Widerstand, Ausdruck für Ionendurchlässigkeit der Membranen
Membranpotential	transmembranales Potential unter Ruhebedingungen einer Zelle
E_m	Abkürzung für Membranpotential
R_m	Membranwiderstand (elektrisch)
messenger, second	Ausdruck für c-AMP, beschreibt dessen Funktion als Wirkvermittler nach extrazellulärer Rezeptorbesetzung eines Hormons oder Transmitters
Mikroinjektion	Substanzapplikation durch Druck mittels Mikropipetten
Nernst	Formel zur Bestimmung des Gleichgewichtspotentials bestimmter Ionen bei freier Diffusion bzw. bei semi-permeablen Membranen
Nachschwankung	extrazellulärer Kaliumaktivitätsverlauf nach Reiz bis zur stabilen Wiedereinstellung auf ein Basisniveau
orthodrom	in der natürlichen Leitungsrichtung des Nerven laufend, Gegensatz antidrom

periontophoretisch	hier: Kaliumaktivitätsverlauf während Iontophorese einer Substanz
perstimulatorisch	hier: Kaliumaktivitätsverlauf während der elektrischen repetitiven Reizung
Permeabilität (z.B. P_K^+)	Ionendurchlässigkeit der Membran in cm/sec
PTH	Posttetanische Hyperpolarisierung, länger dauernde Hyperpolarisierung besonders dünner Nervenfasern nach tetanischer Reizung
PTP	posttetanische Potenzierung, vor- übergehend gesteigerte Erregbarkeit von Motoneuronen nach länger dauern- der tetanischer Reizung
PTU-P	PTU_K^+ hier: posttetanischer Unter- schwing (posttetanic undershoot) Kaliumaktivitätsreduktion unter Ba- sisniveau nach tetanischer Reizung
repetitive Reizung	Reizung durch kurzdauernde Pulse in festgelegten Abständen
Repolarisation	Wiederherstellung des Ruhepotentials nach Depolarisation
Reaktionspotential	evoziertes Potential, das nach Reiz von Sinnesnerven über der Hirnrinde ableitbare Summenpotential

STD-P	STD_K^+ subtetanische Diminution von Kalium (subtetanic decrease) ab Aktivitätsabnahme von Kalium unter Basisniveau bei langsamer repetitiver Reizung (weniger als 20/sec)
SP	slow potential shift, meist von der Kortexoberfläche abgeleitete Gleichstrompotentialschwankungen, meist als "Negativität" meßbar.
tetanische Reizung	definitionsgemäß rasche Reizfolgen über 20/sec
TA-P	TA_K^+ tetanischer Anstieg der Kaliumaktivität
Transport	stoffwechselabhängiger transmembranaler Transport einer Substanz gegen den chemischen Gradienten, bei Ionen gegen den elektrochemischen Gradienten. Nach der Theorie der Ionenpumpe ist der Kaliumtransport meist an den Natriumtransport gekoppelt, die Pumpe ist normalerweise elektroneutral.
elektrogener Transport	Zunahme des Membranpotentials durch ladungstrennende Eigenschaften der Pumpe
voltage clamp	Spannungsklammer. Der Membran wird ein festes Potential aufgezwungen und der resultierende Ionenstrom in seinem zeitlichen Verlauf registriert

1. Einleitung

1.1 Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Wirkungen von Transmitterkandidaten, für die, neben der Vermittlung vor allem inhibitorischer aber auch exzitatorischer Membranprozesse, komplexere Funktionen in neuronalen Geweben diskutiert worden sind: das Noradrenalin und das cyclische 3'5' Adenosinmonophosphat. Im weiteren wurden einige vergleichende Untersuchungen mit GABA (Gamma-amino-butyrate) gemacht, für dessen Natur als inhibitorischer Transmitter eine Reihe von Befunden sprechen. Neben ihrer physiologischen Bedeutung haben alle untersuchten Substanzen ein gewisses klinisches Interesse gefunden. Während die Rolle von Noradrenalin und c-AMP besonders in der Depressionsforschung, aber auch in der Verhaltensphysiologie und der Gedächtnisforschung untersucht worden ist, haben Krampf- und Schizophrenieforschung mögliche Störungen im GABA-System als pathophysiologischen Faktor erörtert.

1.2 Die Problemstellung der Arbeit ging von verschiedenen Punkten aus.

1.) In mikroiontophoretischen Untersuchungen sind in den letzten Jahren verstärkende Einflüsse von c-AMP auf langsame postexzitatorische Potentialnachschwankungen (s-IPSP) im Ggl. Cervical Sup. des

Kaninchens beobachtet worden (267, 144). Zudem zeigten Noradrenalin und c-AMP kurze hyperpolarisierende Effekte an Purkinjezellen des Kleinhirns der Katze (169, 355), was allerdings nicht unwidersprochen blieb (137, 242).

Das dabei untypische Membranwiderstandsverhalten (147, 267, 356) warf die Frage auf, ob solche hyperpolarisierenden Effekte über eine - häufig postulierte - Kaliumleitfähigkeitszunahme erklärbar waren. Frühere Autoren hatten auf einen möglichen Zusammenhang zwischen auffälligen Nachhyperpolarisationen (PTH) und gesteigerten Pumpaktivitäten (140, 324), besonders in dünnen Nervenfasern (161) hingewiesen. Elektrogene Elektrolytverschiebungen waren insofern zu diskutieren.

2.) Die Entwicklung ionensensitiver Mikroelektroden (256-260, 290, 311, 373, 395, 406) und entsprechender meßtechnischer Verfahren war in den letzten Jahren im Bereich der kaliumsensitiven Elektroden soweit vorangebracht worden, daß mit ausreichend stabilen und schnellen Messungen der Kaliumaktivitätsverlauf im neuronalen Extrazellulärraum unter einer repetitiven elektrischen Reizung verfolgt werden konnte. Es hatte sich darüberhinaus gezeigt, daß diese Aktivitätsverläufe pharmakologisch beeinflusbar waren, etwa durch konvulsive (129, 294, 313) und antikonvulsive (157, 212) Substanzen.

Es ergab sich also die Frage, ob auch bei Substanzen mit möglichen direkten oder, via Erregung, indirekten Einflüssen auf die transmembranale Elektrolytverteilung, nach mikroiontophoretischer Applikation, extrazelluläre Kaliumaktivitätsmodulationen erfaßbar waren.

3.) Der visuelle Kortex der Katze erwies sich für derartige Untersuchungen als besonders geeignet, weil hier unter bestimmten Reizbedingungen sowohl Kaliumaktivitätszunahmen als auch -abnahmen zu provozieren waren. Ein größerer Teil der Elektroden erwies sich aber unter den Bedingungen intrakortikaler Ableitung als nicht ausreichend stabil, um zeitlich ausgedehnte und damit vergleichbare Reizserien zu erhalten. Es ergab sich dadurch die Anregung zu verfahrenstechnischen Modifikationen in der Elektrodenherstellung.

Zur Bildung theoretischer Erwartungen der Kaliumaktivitätsverläufe und deren möglicher pharmakologischer Beeinflussung werden einleitend die wichtigsten Fakten des Konzeptes erregbarer Membranen, unter besonderer Berücksichtigung der Regulation, Dynamik und Funktion transmembranalen Kaliums, zusammengefaßt.

1.3

1.3.1 Die vorwiegend zwischen 1940 und 1960 zuerst an einfachen erregbaren Strukturen abgeleiteten und heute in weiten Bereichen, auch unter verwickelten Compartmentverhältnissen, akzeptierten Theorien der transmembranalen Potentialbildung ging zunächst von der Erwartung einer potentialbildenden transmembranalen Ungleichverteilung membrangängiger Elektrolyte bei einer nicht membrangängigen intrazellulären $(38)^-$, etwa proteinischen Anionenfraktion, aus. An Grenzflächen ungleich verteilter, oder ungleicher Elektrolyte entstehen infolge ungleicher Beweglichkeiten Diffusionspotentiale. Das so an semipermeablen Grenzflächen entstehende Potential ist das Nernstsche Potential.

Dem Konzentrationsgefälle entgegengesetzt entsteht eine EMK (elektromotorische Kraft), die antagonisierenden Arbeiten (osmotisch - elektrisch) steuern ein Gleichgewicht an:

$RT \ln C_1/C_2 = EF$. Die üblicherweise gegenüber anderen Elektrolyten höhere Permeabilität des Kaliums (bzw. seine Leitfähigkeit) bestimmt eine Annäherung des Membranpotentials (E_m) an das Kaliumgleichgewichtspotential (E_k) (167, 168, 192). Da unter Ruhebedingungen E_k und E_m aber kaum zur Übereinstimmung gebracht werden, erwuchs aus den daraus resultierenden und zuerst in Tracerexperimenten

(391) bestätigten Leckströmen die Forderung aktiver Transportmechanismen (168), wie übrigens ebenso aus der notwendig schnellen Rückverteilung der durch ihre Ströme den Erregungsablauf steuernden ionalen Ladungsträger.

Für Leck- und Erregungsströme waren ionenspezifische Kanäle zu postulieren, wie die ungleichen Leitfähigkeiten und später die selektive Blockierbarkeit einzelner Ionenströme zeigten (192).

Elektrisch waren diese wichtigsten Membraneigenschaften als parallelgeschaltete Widerstands-Kapazitäts-Elemente erfaßbar, mit jeweils charakteristischer Zeitkonstanten $\tau = RC$; τ und eine Reihe weiterer Kabelkonstanten bestimmen die für integrative Membranleistungen wichtige Ausbreitung elektrotonischer Potentiale (114). Im Erregungsablauf schließlich sind neben den klassischen, im Voltage clamp genau erfaßbaren Natrium- und Kalium-Stromverläufen (166) "atypische", zum Teil interferierende und koppelnde Ionenströme (häufig auch artspezifisch) beobachtet worden, in erster Linie für Calcium, Kalium und Chlorid, deren Bedeutung im einzelnen noch bearbeitet wird.

1.3.2 Seit Elliotts Vorschlag (1904), daß Adrenalin ein aktives Prinzip in der sympathischen Nervenreizung sei, und seit Loewis Entdeckung (1921) des Vagusstoffes ist das Prinzip der chemisch vermittelten Impulsübertragung zwischen erregbaren Strukturen akzeptiert.

Das funktionelle Erfordernis eines biologischen "Impedanzwandlers" läßt sich berechnen (Katz, 1966). Es stellte sich heraus, daß in der synaptischen Transmission die einzelne Transmitterwirkung jeweils in ein umfassendes funktionales Schema eingebaut ist, deren vielfache Einzelschritte sowohl experimentellem als auch pharmakologischem Ansatz dienen kann. Bloom (44) äußerte, daß die spezifisch methodischen Gesichtspunkte der Pharmakologie und Biochemie einerseits und der Physiologie andererseits zu etwas "ideologischen" Konzeptionalisierungen geführt hatten, so daß Befunde des anderen "methodologischen Lagers" wenig beachtet wurden. Während in der biochemischen Pharmakologie das Rezeptormodell vor dem Hintergrund klinischer und histologischer Befunde herausgestellt wird, erfordert in der physiologischen Pharmakologie der Beweis, daß eine Substanz ein oder der Transmitter einer jeweiligen Junktion ist, die Demonstration ihrer Wirkung an der postsynaptischen Zelle: identisch in jeder Hinsicht mit der synapti-

schen Aktion und in ausreichender Menge von der Terminale produzierbar (229). Obwohl es in diesem strengen Sinne praktisch kaum einen Beweis für irgendeinen postulierten Transmitter gäbe (373), ist man in der physiologischen Pharmakologie dieser For- derung doch mehrfach recht nahegekommen (220). Durch die Befunde, daß einige der Transmitterkandidaten postsynaptisch elektrische Antworten eher phasischen Charakters hervorrufen (373) mit z.T. wohl elektro- genem Charakter, dessen Vermittlung über relativ aufwendige molekulare Abläufe wahrscheinlich ist (55), ergeben sich denkbare Beziehungen zu Phäno- menen der Membranmodulation, die als postsynapti- sche Bahnungen und Hemmungen erfaßbar sind. In einem erweiterten neurochemischen Denkschema werden so etwa auch hormonelle Einwirkungen auf neuronale Ak- tivität verstehbar.

1.3.3 Aktive, d.h. energieverbrauchende (112) transmembranale Transportvorgänge gegen Konzentra- tionsgradienten werden einerseits für den synapti- schen und vesikulären Transmitter reuptake (45) andererseits, wie erwähnt, für die ionalen potential- erhaltenden bzw. -bildenden Pumpen diskutiert (82, 83). Energetische Berechnungen zeigen, daß ein wesent- licher Teil des gesamten Energieverbrauchs überhaupt für aktive Transportvorgänge im Körper aufgewendet werden muß. Hazlewood (1972) zitiert eine Reihe von

Autoren, die je nach rechnerischem Ansatz zwischen 9% und 23% vom Gesamtenergieverbrauch den Ionenpumpen zuschreiben. Die Gültigkeit des Transportmodells wird heute praktisch nicht mehr in Frage gestellt.

Der potentialbildende Anteil unter Ruhe und bestimmten hyperpolarisierenden Bedingungen erscheint allerdings großen Schwankungen, je nach Zellart, Spezies und Untersucher zu unterliegen (161, 180, 199-204, 264, 276). Der zunächst äußerst geringfügige Potentialverlust bei Vergiftung der Pumpe spricht, wie schon Hodgkin und Keynes (1955) argumentierten, nicht gegen eine Elektrogenität (34). Unter der Annahme einer 3:2 Kopplung (18), die Verhältnisse, die andere Autoren angeben (192) schwanken um diesen Wert, läßt sich für einen geringen spezifischen Membranwiderstand nur ein unwesentlicher Beitrag zur Potentialbildung durch den Netto-Stromfluß (67) errechnen. Immerhin konnte erwartungsgemäß bei höheren Membranwiderständen oder abnehmenden Kurzschlußströmen ein höherer Anteil zur Potentialbildung gezeigt werden. Kerkut (The electrogenic sodium pump, 1971) hält bei sehr großer Flächen-volumenrelation einen potentialbildenden Anteil bis zu 50% für denkbar. Bei Aplysia-Neuronen wurde ein 60%iger Anteil mitgeteilt (336).

Tatsächlich läßt sich in Vergiftungsexperimenten am Squidaxon doch ein "Sofortabfall" zwischen 2 und 3 mV messen, der sich dann langsam in Folge des Kaliumgradientenverlustes erhöht (192).

Als Modelle elektrogener Vorgänge dienen besonders die bei vielen neuronalen Strukturen ausgeprägten und meist über E_k hinausgehenden Hyperpolarisationen, die durch Natrium-Injektion (151, 216, 382) oder Rückführung aus einem kaliumfreien Medium in ein Normalmedium hervorgerufen werden. Hyperpolarisationen bis zu 30 mV sind bei Natrium-Injektionsversuchen gesehen worden (201). Weiterhin modellhaft wird die posttetanische Hyperpolarisierung interpretiert, bei der sich eine besonders deutliche Stoffwechselabhängigkeit nachweisen ließ (125, 140, 287, 324). Im eher physiologischen Bereich sind die langsamen IPSPs an sympathischen Ganglien und an Molluskenganglien mit elektrogenen Pumpen in Zusammenhang gebracht worden (215, 217, 233, 294). Bei Mollusken wurde vor allem auch erstmals die pharmakologische Aktivierbarkeit der s-IPSPs demonstriert. Hier erwiesen sich Dopamin und Acetylcholin als wirksam (203, 369). Mehrfach sind elektrogene Interpretationen im Bereich der erwähnten Phänomene kritisiert worden und andere biophysikalisch denkbare Begründungen vorgeschlagen worden (192, 264). Eccles (106) konnte bei besonders auffälligen Riesen-IPSPs im Hippocampus deren Genese

durch ein interneuronales Verschaltungsmuster zeigen.

Baker u. Willis (28) geben in einer Übersicht der Spezifikationsmöglichkeiten für Pumpen zwischen 500 und 1500 Pumpporte/ μm^2 für eine große Anzahl von Zellarten an. Quantitative Angaben des gepumpten Ionenflusses schwanken zwischen $1-3 \text{ pMol cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ Natrium. Unter Erregungsbedingungen werden maximal um einen Faktor 10 gesteigerte Pumpenraten berechnet (50). Energetischer Vermittler der Pumpe des Transports schlechthin scheint weitgehend durch die ATPasenfraktion der Membran gegeben zu sein (136, 366). ATPasen sind kationenstimuliert. Interaktionen mit einer ATPase sollten für Substanzen, die hemmend oder fördernd in Transportvorgänge eingreifen, nachweisbar sein. Die Aktivierung der hypothetischen Carrier soll über eine Phosphatierung erfolgen, deren Phosphat, durch eine ATPase katalysierte Phosphorylierung von ATP, möglicherweise über eine aktivierte Phosphokinase zur Verfügung gestellt wird (349). Alternativ wurde vermutet, daß der Transport über eine Phosphorylierung der ATPase und einer damit verbundenen Konformationsänderung, also durch die "ATPase" selbst (d.h. durch einen Phosphotransferase-Acylphosphatase-Komplex) erfolgt (74).

1.3.4 Während also offenbar die Pumpleistung unter bestimmten Bedingungen (75) um einen Faktor 10 gesteigert werden kann, liegen Berechnungen vor, nach denen der repolarisierende Kaliumausstrom um einen Faktor 100 zunimmt (50) und somit bei repetitiver Reizung auf Dauer eine intrazelluläre Verarmung an Kalium erwartet wurde (104). In Traceruntersuchungen hatte sich schon vorher ergeben, daß zumindest ein Teil des Leckstromes von einem Kaliumausstrom getragen wurde (192) und daß sowohl in Ruhe als auch unter Erregung nur unter bestimmten Bedingungen sich der Kaliumfluß auf den intramembranal Bereich zu beschränken scheint, Kalium ansonsten die Zelle verläßt und somit in Ruhe und Erregung Fließgleichgewichtseinstellungen zu erwarten sind (3,32). Die Dimension des Kaliumleckstromes mit einigen $\text{pMol/cm}^2 \text{ sec}$ bewegt sich im gleichen Bereich wie die Kaliumausstrom/Impuls mit ebenfalls einigen $\text{pMol/cm}^2/\text{Impuls}$ (104, 192). Sowohl Ausstrom als auch Transport folgen ja Kinetiken, die auf recht komplizierte Austauschverhältnisse hinweisen, die einerseits gegen eine 1:1 Austauschdiffusion sprechen und andererseits eine Charakteristik haben, die erwartet würde, wenn das Ion reversibel in einen Enzymkomplex in der Membran gebunden würde. Insofern war die 1948 von Libet beschriebene ATPase eine wichtige funktionelle Brücke und der Kaliumtrans-

port lässt sich in den üblichen Formeln der Enzymkinetik fassen und eine Michaelis-Konstante dafür angeben. Obgleich gezeigt werden kann, daß ATP die Direktenergiequelle für den Transport darstellt, werden, wie schon dargelegt, ATPase und Carrier meist nicht miteinander identifiziert, sondern die Phosphorylierung des hypothetischen Carriers weiterhin als funktionelle Aktivierung angesehen. Auch von Seiten des gehemmten Rücktransportes kann eine Steigerung des Kaliumausstromes erwartet werden und eine durchschnittliche Steigerungsrate von 30-40% wurde von Sjodin (362) berechnet. Da es Hinweise gibt, daß das zu transportierende Ion sich an bestimmten Membranorten anlagern muß, besteht die Möglichkeit einer kompetitiven Hemmung von außen her, die sich ebenfalls auf den Netto-Ausstrom auswirken sollte. Eccles (104) berechnete den Kaliumausstrom bei hyperpolarisierenden Pulsen durch die intrazelluläre Elektrode und fand unter der Annahme, daß der Strom durch Kalium getragen wird, die Möglichkeit einer raschen, intrazellulären Kaliumverarmung. Seine Berechnungen machen den geringen absoluten Kaliumgehalt der Zelle deutlich. Eine wichtige Untersuchung zur Frage der Fließgleichgewichtseinstellung unter der Erregung war, neben den Befunden zur Gliafunktion (235), das Untersuchungsergebnis von Skou (367), daß Natrium und Kalium über ein Konzentrationsmaximum hinaus hem-

mend auf die ATPase-Aktivität wirken. Bei niedriger extrazellulärer Natriumkonzentration liegt ein solcher Grenzwert für Kalium bereits in einem Bereich von 10 mMol/l (!).

Das Schicksal des Kaliums im Extra- und natürlich auch im Intrazellulärraum unterliegt einer Reihe biophysikalischer Konstanten (192, 167, 247, 257), für die in erster Linie die Größe des Kaliumions ($r = 1,33 \text{ \AA}$) einschließlich seiner Hydratationshülle (Hydratationszahl 2,9; effektive Größe damit kleiner als die des "schwereren" Na^+) maßgebend sind. Solche Konstanten sind 1. der Aktivitätskoeffizient, der die Abschwächung der "wahren" Konzentration durch die gegenseitige Anziehung der Ionen zur wirksamen Konzentration beschreibt; 2. die (Grenz-)Leitfähigkeit; 3. die Beweglichkeit im elektrischen Feld; 4. der Verteilungskoeffizient zwischen Membran und Lösung; 5. die Größen, in die die vorher erwähnten Konstanten zum Teil eingehen: die Diffusionskonstante und die Permeabilitätskonstante für einen gegebenen Membrandurchmesser und 6. die Membrankonstanten, die in die Beziehung der Wahrscheinlichkeit n , daß mehrere geladene Teilchen sich gleichzeitig an einer bestimmten, für K^+ durchgängigen Membranstelle befinden, zur K^+ -Leitfähigkeit $g_{\text{K}} \left[\frac{\text{mmho}}{\text{cm}^2} \right]$ eingehen.

Lux u. Neher (257) berechneten aus der Diffusionsbeziehung $x^2 = 2 Dt$ die Größe des Totraumes um eine Meßelektrode und aus der Gleichung von Carslaw u. Jaeger (1951) den Zeitverlauf der K^+ -Konzentration nach vorgegebener Veränderung in der Zeit. Aus vergleichenden Messungen des Voltage-clamp-Auswärtsstromes mit dem Kaliumsignal berechneten Neher u. Lux (290) für eine sphärische Zelle die Kaliummenge im Extrazellulärraum zur Zeit t :

$$M_t = \int_{r_0}^{\infty} c_t(r) 4r^2 dr$$

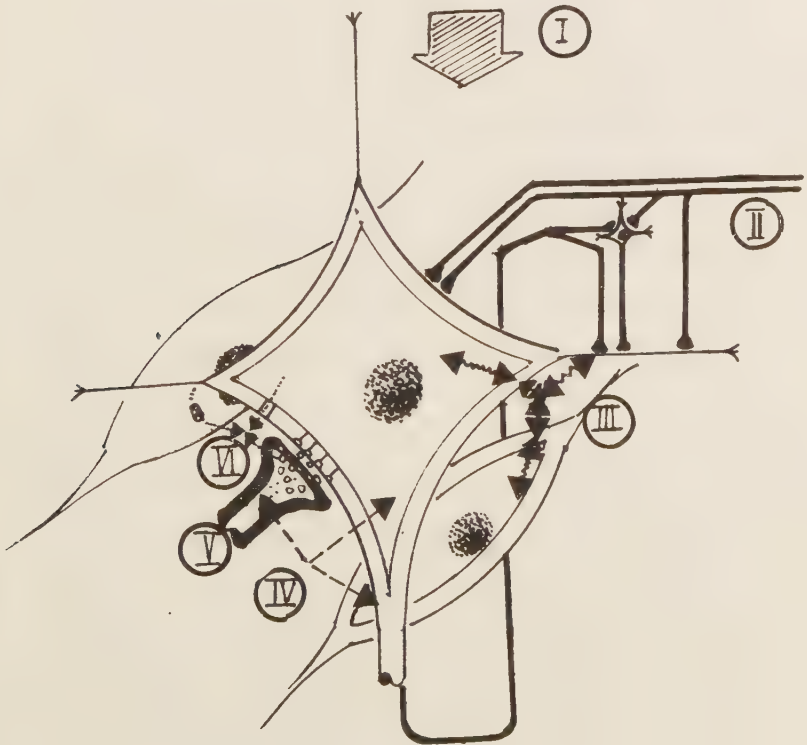
wobei r_0 der Zellradius und c_t die Kaliumaktivität zur Zeit t bedeuten. Unter der Annahme eines konstanten Feldes über der Membran lassen sich Permeabilität und K^+ -Leitfähigkeit miteinander in Beziehung bringen (192). Auch der gK-Verlauf unter der Erregung, der, im Voltage-clamp erfaßbar, in gewissem Ausmaß Aktivierungs- bzw. (stationären) Inaktivierungsprozessen unterworfen ist, erwies sich als formulierbar. Genauer eingrenzen lassen sich diese K^+ Kinetiken durch Ersatz oder Inaktivierung des Natriumsystems. Da gK ja unter Ruhebedingungen die entscheidende Größe für Richtung und Spannung der Membran ist, lassen sich für $a_{K_0}^+$ Veränderungen Umspannungen in der Umgebung erwarten und zeigen (5, 188), die sich in physiologischen Konzentrationsbereichen aber als Ausdruck des geringen Ein-

flusses etwa der gNa^+ nicht linear verhalten und besonders in kaliumfreier Lösung zeigt sich durch inhibitorische Interaktion mit dem Transportsystem eine Depolarisation. Der tatsächliche Einfluß der $a_{K_O}^+$ auf Nachbarschaftsumspannungen wird von verschiedenen Autoren verschieden eingeschätzt (361). Sicher gehen eine Vielzahl struktureller Faktoren des Compartments dabei mit ein: die elektrotone Umspannung scheint nicht nur auf ionale und kapazitative Membranströme, sondern auch, möglicherweise durch die $a_{K_O}^+$ Veränderung selbst, auf elektrotone Membrankonstanten als Folge glialer und synaptischer Schwellung (47) einwirken. Darüber hinaus ist es wohl selbstverständlich, daß dieses Fließgleichgewicht außerordentlich sensibel reguliert ist und schon durch eine Reihe sehr einfacher Maßnahmen wie die Veränderung des pCO_2 (47), pO_2 (253), pH (64), pCa (271), T^O (251) oder der Glukosekonzentration (149) zu verschieben ist. In dem nachfolgenden Schema sind die Angriffspunkte der K^+ -Regulation unter vereinfachten Annahmen zusammengestellt.

Zeichenerklärung

- I. K^+ Pool
 - 1. Stoffwechselsituation
 - 2. Ernährung
 - 3. passive Verschiebungen mit Metabolitentransport
- II. Erregungseingangsmuster
inhibitorisch - exzitatorisch

- III. Passive Verteilung
 - 1. Compartment: Diffusion
 - Beweglichkeit
 - 2. Membran: Permeabilität
 - Leitfähigkeit
 - 3. Elektroosmotisches Gleichgewicht
- IV. Aktive Wiederaufnahme
 - 1. O_2 -verbrauchende Pumpen
 - 2. ATPasen
 - 3. Carrier
- V. Synaptische Transmission
 - 1. Transmittersystem
 - 2. Rezeptoren
 - 3. Präsynaptische Hemmung (und Bahnung)
- VI. Membrankonfiguration
 - 1. Kanalsystem und Leitfähigkeiten
 - 2. Kabelkonstanten
 - 3. Membranproteinladungen



Bei K^+ -Erhöhungen im Extrazellulärraum, etwa in der Umgebung einer feuernden Zelle (49) oder eines erregten Zellverbandes, sollte es, wie erwähnt, nach der Nernst'schen Gleichung zu Depolarisationen in benachbarten Strukturen kommen. In der Tat wurde solches häufiger für präterminale Afferenzen, besonders am Motoneuron, gefunden und als (depolarisationsblockartige) Leitungsbehinderung beschrieben (105). Auch Depolarisationen in benachbarten Neuronen sind in einzelnen Fällen gefolgt. Das am regelmäßigsten registrierte Phänomen in diesem Zusammenhang bleibt allerdings die Gliazelldepolarisation (129, 297, 302, 314, 321, 379), die sich häufig geradezu wie eine kaliumsensitive Elektrode verhält. Es lag nahe, die depolarisierende Wirkung des extrazellulären K^+ mit der präterminalen Depolarisation etwa der präsynaptischen Hemmung in Verbindung zu bringen (57, 344, 381). Was sich also einerseits als willkommene Erklärung anbietet, würde in anderem Zusammenhang zu Interpretationsschwierigkeiten führen. Elektrische Kontaminationen nicht nur auf kortikaler, sondern auch auf der Ebene nicht myelinisierter Nerven, müßte die Regel sein. Seit der Verwendung von kaliumsensitiven Elektroden kann zudem gezeigt werden, daß es einerseits tatsächlich zu einem Anstieg der K^+ -Aktivität in der Umgebung depolarisierter Afferenzen kommen kann, daß das

K^+ -Puffersystem also unter Umständen nicht ausreicht, die Elektrolytkonzentration ganz im Gleichgewicht zu halten. In diesem Zusammenhang sind früher Untersuchungen über die Wechselwirkung synaptischer Depolarisation und terminaler Transmitterfreisetzung durchgeführt worden. Es fällt auf, daß die Befunde sehr widersprüchlich sind (105, 192, 256). Während eine Reihe von Autoren, zuerst del Castillo u. Katz (1965), Anhaltspunkte für eine erhöhte Transmitterfreisetzung stromdepolarisierter Synapsen (der Endplatte) fanden, interpretierte Takeuchi (381) seine Befunde anders: Er setzte die elektrische Depolarisation der Synapse mit einer verminderten Transmitterfreisetzung in Beziehung, mit erhöhter Transmitterfreisetzung nur, wenn die Synapse unter Gabe von K^+ ins Medium depolarisiert wurde. In neurophysiologischen Experimenten fanden sich nachfolgend Argumente für einen eher generellen Zusammenhang zwischen präsynaptischer Vordepolarisation, auch der kaliumvermittelten, und abnehmender Transmitterfreisetzung (177, 226). Diese Argumente wurden flankiert von anderen Befunden, die bei synaptischer Hyperpolarisation eine gesteigerte Transmitterabgabe wahrscheinlich machten, vor allem in Zusammenhang mit der Frage elektrogener synaptischer Mechanismen (197, 310).

In neueren Untersuchungen zeigte sich aber, daß

präsynaptische Hemmung und extrazelluläres K^+ keineswegs miteinander korrelieren müssen, denn es wurden unter Bedingungen intrinsisch erhöhter K^+ -Aktivität sowohl Zunahme als auch Abnahme der synaptischen Erregbarkeit einerseits und jeweils nicht korrelierter Transmissionsraten andererseits gefunden (34, 55, 57, 361). Es ist also zu überlegen, ob die K^+ -Depolarisation für die Zelle bzw. die Synapse einen Sonderfall darstellt oder darstellen kann - im Sinne Takeuchis - oder ob durch die zelluläre und subzelluläre Organisation des Compartments am Wirkort jeweils Bedingungen gehalten werden, die den größeren biophysikalischen Veränderungen (191) entgegenstehen. Immerhin gibt es aber auch Anzeichen, etwa die besonders ausgebildete K^+ -Aufnahmekapazität der Gliazellen (34, 35), daß das extrazelluläre Compartment ein Interesse hat, extrazelluläre K^+ -Erhöhungen zu vermeiden und möglichst rasch auf einen Gleichgewichtszustand zurückzuführen.

1.4 Noradrenalin, peripher als β -, vorwiegend aber als α -Stimulator mit entsprechend systemischer Blutdruckwirkung bekannt, gilt im ZNS als Transmitterkandidat mit vielfältigen Wirkungen, obgleich eine Transmitternatur nicht als bewiesen gelten kann (90, 229, 373). Eine Reihe noradrener-

ger Antworten werden durch Adrenalin und vor allem durch β -Stimulatoren übertroffen (31, 132, 252, 341). Eher langsame phasische Effekte sind vorwiegend mit α -Blockern hemmbar (144, 373).

Häufig steht Noradrenalin für eine definierte Wirkung in einer Reihe mit anderen ähnlichen Substanzen, wobei seine Effizienz oder "Rangordnung" unterschiedlich beurteilt wird, was schließlich auch für Anzahl und Richtung der im Kortex gefundenen noradrenergen Phänomene gilt (373, 393). Die vorwiegend gefundenen neurophysiologischen Wirkungen sind inhibitorischer Natur (229). Allerdings fand sich eine gewisse Abhängigkeit der blockierenden versus aktivierenden Wirkung von der Narkosetechnik (373). Die prozentualen Angaben für Zellen mit noradrenerger Antwort schwanken hinsichtlich der Großhirnrinde zwischen sehr wenigen und 49 Prozent (Gyr. ektosylv. Katze; 373). Die häufigen Hyperpolarisationen zeigen Latenzen von mindestens 1 sec, an der Purkinje-Zelle sind wesentlich längere Latenzen gemessen worden (169). Die Effekte werden teilweise als kurzdauernd beschrieben, auf Membranwiderstandserhöhungen ist hingewiesen worden (355, 356). Die noradrenergen Zellen des (a.Bod. Ventr. IV) Locus coeruleus haben pathways, von denen besonders die Purkinje- und die motorischen Pyramidenzellafferenzen beachtet wurden.

Auch andere, hypothalamische Regionen sind besonders noradrenalininsensitiv (354). Krnjević (229) betont zusammenfassend, daß die inhibitorischen Aktionen ganz allgemein uncharakteristischer und verwaschener anmuten als etwa die inhibitorischer Aminosäuren; zum molekularen Wirkmechanismus ist die R_m -Erhöhung verschieden interpretiert worden: als reduzierte P_{Na} oder P_{Ca} , als Anstieg von freiem $[Ca_i^{++}]$ (229), als Zuwachs schließlich von gK (385), oder als Effekt auf eine elektrogene Pumpe (51, 215).

Im Gegensatz zu den bis heute relativ armen Beweisen über die Rolle des Noradrenalin im ZNS kann man in vegetativen Ganglien neurophysiologisch eindeutiger Evidenz einer physiologischen Transmission zeigen. Dort sind Noradrenalin und Dopamin in ungefähr gleicher Weise effektiv als Inhibitoren, wahrscheinlich als Vermittler des s-IPSP, ein α -blockierbarer Vorgang. Auch hier ist eine elektrogene Aktivierung diskutiert worden (141-147, 267). Ganz allgemein stellt man bei der Durchsicht der Literatur fest, daß gegenüber den sehr schwankenden direkten neuropharmakologischen Erhebungen, die häufig auch noch durch plausibel erscheinende, methodische Kritik (393) belastet sind, die "Potenz" des Noradrenalins mit methodischer Entfernung von der Zelle eher "belegbar" erscheint. Es gibt ja zahlreiche bioche-

mische und immunhistochemische Hinweise, daß die Rolle von Noradrenalin im Gehirn nicht wegdiskutiert werden kann. Auch die Interaktionen mit Calcium werden häufig in Abhängigkeit von der Untersuchungsmethode nicht einheitlich beurteilt. Calcium gilt einerseits als "Koppler" oder primärer "transducer" prä- und postsynaptischer Noradrenalinprozesse, besonders in der synaptischen Transmitterfreisetzung (308), andererseits als Antagonist der cerebralen Noradrenalin-Inhibition (74).

Da Noradrenalin, wie schon angedeutet, in vielen Spekulationen und Untersuchungen mit aktiven, z.T. elektrogenen Transportprozessen zusammengebracht worden ist, sind seine energetischen Aspekte eingehender untersucht worden (15, 17). Grundsätzlich spielen solche Fragen nicht nur beim Ionentransport, sondern auch bei der Wiederaufnahme und Speicherung in Terminalen und Vesikeln eine Rolle (45, 285). Die Lipolyse allein scheint nicht ausreichend ATP für die Wiederaufnahme zu bringen (150). Aus Glykolyse und oxydativer Phosphorylierung soll das notwendige ATP für einen Na-K-abhängigen Pumpenmechanismus zur Verfügung gestellt werden (58, 139, 291). Für die Aufrechterhaltung des mobilen Noradrenalin-Pools werden weitere energiekonservierende, atmungsgekoppelte Reaktionen angenommen (285). Die Wiederaufnahme der Katecholamine wäre damit

ein komplexes Beispiel der Kopplung von Noradrenalin mit einem aktiven Transport. Weitere energetische Fragen ergeben sich hinsichtlich des Vesikeltransports im Neuron selbst (369).

Einige Autoren sehen, nicht ganz unbestritten, einen wichtigen Einfluß von Noradrenalin auf die Funktionen der Glia, besonders auf gliale Adenylcyclasen: Stimulierung des Glykogenpools und/oder verschiedener Transportmechanismen (132, 185, 245, 325).

In der klinischen Neurophysiologie wurden in älteren Arbeiten die Wirkungen des Noradrenalins auf EEG und evoziertes Potential als sehr gut reproduzierbar beschrieben, besonders nach intravenöser Applikation, solche Befunde sind aber nach dem Nachweis der sehr geringen Bluthirngängigkeit (Weil u. Malherbe, 1961) von Adrenalin und Noradrenalin kritisiert worden (205). Neuere Arbeiten sehen eine Beeinflussung von evozierten, geaveragten Potentialen durch Eingriff in den Katecholaminstoffwechsel (206), ebenso scheinen "Halte"- oder Gleichstrompotentiale ("cortical negative voltage" oder "slow negative potential") noradrenerg beeinflusbar zu sein (153, 184, 194). In Verhaltensstudien ist vor allem Zu- oder Abnahme des "arousals", je nach Lokalisation der intercerebralen Noradrenalininteraktion, mit-

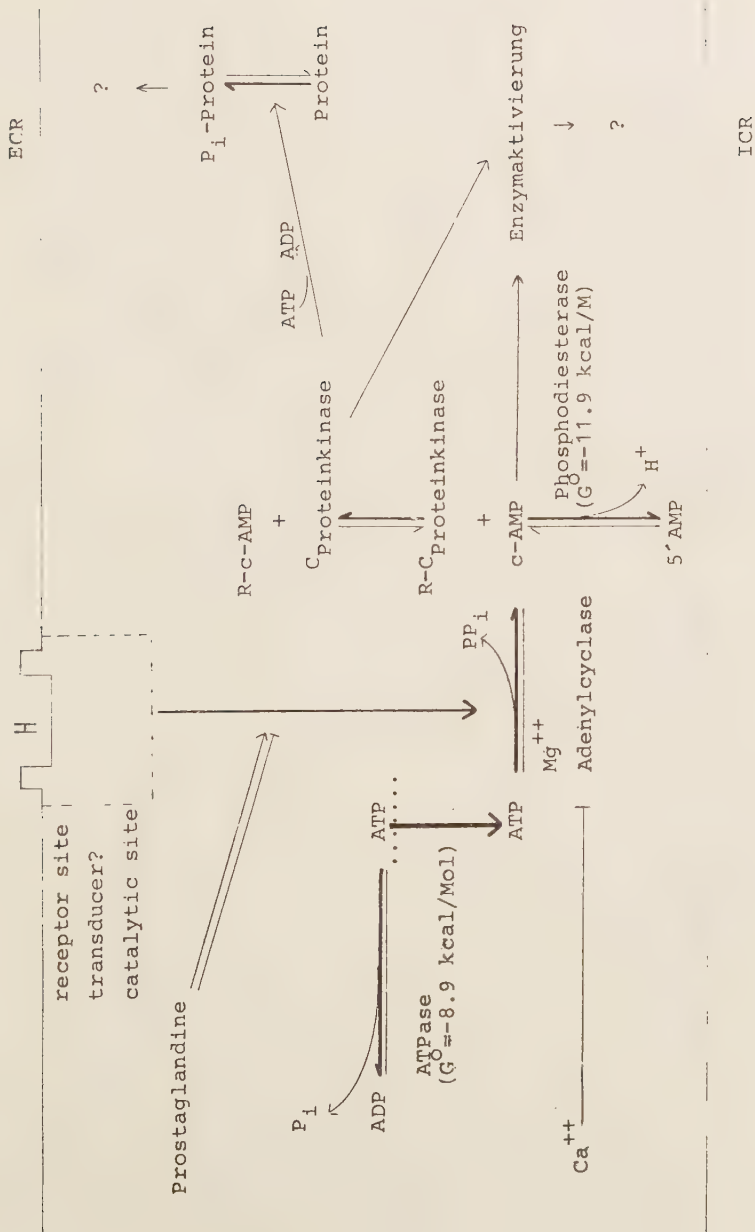
geteilt und bezweifelt worden (160, 205, 206, 249, 269, 364).

Sehr weitgehende theoretische Erörterungen sind mit dem Noradrenalin in der pharmakologisch-biologischen Psychiatrie angestellt worden. Hier sind sowohl für depressive (261, 307) als auch schizophrene (368) Erkrankungen Argumente für Störungen der Katecholaminfunktionen im Gehirn mitgeteilt worden. Eine große Anzahl von Psychopharmaka zeigt biochemisch faßbare Einwirkungen auf Noradrenalin-Parameter wie die synaptische und vesikuläre Wiederaufnahme, die vesikuläre Katecholaminverarmung sowie Synthese und Abbauschritte (146, 277, 368).

1.4.2 Bei den Untersuchungen der aktivierenden Mechanismen des Adrenalins und Glucagons auf die Glykolyse konnten Sutherland u. Rall (1957) einen hitzestabilen Faktor identifizieren und strukturell erklären, das cyclische 3'5' Adenosinmonophosphat. Nach weiterem Studium der hormonellen und zellulären Interaktion führte Sutherland 1965 das second messenger Konzept ein (378). Das aus ATP über eine Adenylcyclase katalysierte Molekül gilt als Triggersubstanz eines intrazellulären biochemischen hormoninduzierten Ablaufes. Nach den Befunden deutlich aktivierbarer Adenylcyclasen in neuronalen Geweben zeigten Goldberg und Singer (359) Anhaltspunkte für eine Rolle des cyclischen AMP in der

synaptischen Transmission. Die Vielzahl der heute bekannten, vermittelten hormonellen Wirkungen, die in fast allen Bereichen der Biologie, von den Bakterien bis zu den Primaten, gefunden werden (142, 326), läßt es nicht sinnvoll erscheinen, hier einen einleitenden Überblick zu geben.

Da die Einzelschritte der c-AMP-Regulation auch im Neuron relativ schematisch abzulaufen scheinen, sei dies kurz rekapituliert. ATP wird unter Abspaltung von Pyrophosphat zu cyclischem AMP umgebaut. Die Reaktion ist reversibel. Die freie Energie der Hydrolyse der 3-Bindung ist relativ hoch, höher als die freie Energie der Hydrolyse von ATP zu ADP (143). Die c-AMP vermittelte Wirkkette beginnt mit einer direkten Enzymaktivierung oder der Aktivierung einer Proteinkinase (130, 141), über die wiederum Enzymaktivierungen oder (Membran-)Proteinphosphorylierungen erfolgen können (30, 66, 108). Der Abbau erfolgt über Phosphodiesterasen (16, 123). Die Zusammenhänge sind in dem nachfolgenden Schema noch einmal verdeutlicht.



Es fiel auf, daß der Gehalt von c-AMP in verschiedenen Arealen des Gehirns nicht nur nach der Entnahme solcher Gewebe oder entsprechend dem Ableben des Versuchstieres innerhalb von Sekunden um ein Vielfaches anstieg, sondern auch daß 1. das Cerebellum dabei besonders "sensitiv" war und 2. durch stimulierende oder depolarisierende Maßnahmen wie die Gabe von Kalium, Veratridine, Histamin, Adenosin und einer Reihe weniger potenter Substanzen, unter ihnen Ouabain, Katecholamine u.a. sowie durch repetitive elektrische Reizung in gleicher Weise die c-AMP-Konzentration zu erhöhen war (189, 315, 352, 317). Alle diese Maßnahmen sind im Sinne einer Stimulation der Adenylcyclase zu interpretieren. Es stellte sich heraus, daß bei der Untersuchung solcher Effekte die verwendete Technik unterschiedliche Resultate brachte: Während etwa Fluorid in Homogenaten ein potenter Stimulator der Cyclase ist, erweist es sich bei der Untersuchung kompakter Gewebeteilchen in der Kultur oder am intakten Versuchstier als unwirksam (326). Es zeigte sich auch, daß ein gegenteiliges Verhalten vorzuliegen scheint hinsichtlich der Aktivierung durch Katecholamine. Diese Frage ist besonders umstritten (81), da einige Autoren auch bei Verwendung kompakter Gehirnstücke keinen sehr ausgeprägten Effekt etwa durch Zusatz von Noradrenalin fanden (301, 326), andere dagegen eine doch deut-

liche Steigerung des c-AMP-Gehaltes (91, 92, 124, 317, 364, 365). Eindrucksvolle Resultate sieht man, wie schon angedeutet (1.4.1), in Gliazellkulturen (245, 306a, 306b). Die Frage der Katecholamineinwirkung auf die Adenylcyclase scheint nach dem heutigen Stand der Dinge soweit abgrenzbar zu sein:

1. Noradrenalin stimuliert häufig wirksamer als Serotonin oder Dopamin (345, 346), weniger wirksam dagegen als Histamin (76) und Adenosin (345).
2. Solche Effekte sind nicht nur hirnregional spezifisch, wobei auch hierbei das Kleinhirn am deutlichsten anspricht, sondern offenbar auch artspezifisch (115, 131, 187).
3. Trotz der Befunde zu den hemmenden Einflüssen neuroleptisch wirksamer Pharmaka und den stimulierenden Einflüssen von antidepressiv wirksamen Pharmaka und des Elektrokrampfes auf die Adenylcyclase ist es gegenwärtig nicht möglich, begründbare physiologische oder klinische Aussagen zur Interpretation des c-AMP-Mechanismus zu machen (391, 387).
4. Eine Reihe noradrenerger, dopaminerger, und serotonerger Beeinflussungen des elektrischen Verhaltens der neuronalen Membran konnten direkt neurophysiologisch durch c-AMP bzw. N⁶-2'-O-Dibutyryl-Adenosin 3'5'-Monophosphat simuliert werden (337). Ionale Leitfähigkeitsveränderungen sind dabei neben ladungstrennender Transportaktivierung überdacht worden. In der nachfolgenden Tabelle sind aus die-

sem Grund die Mehrzahl der bisher erhobenen Befunde zum Einfluß von c-AMP auf den möglichen Ionenfluß an verschiedenen Membranen zusammengestellt (siehe nächste Seite).

Hinsichtlich der klinischen Korrelationen zu gefundenen Veränderungen der Konzentration von c-AMP im Liquor und Urin ist vor allem auf Konzentrationserhöhungen bei hirntraumatischen Erkrankungen (392) und auf Korrelation zum Hyperparathyreoidismus hinzuweisen (283).

In vielfacher und sehr widersprüchlicher Art und Weise ist der Prostaglandin-Stoffwechsel in den c-AMP-Stoffwechsel verwickelt. Bei einer Vielzahl prostaglandinspezifischer und zellspezifischer hemmender und fördernder Interaktion ist im Gehirn in erster Linie der antagonistische Einfluß der PGE Prostaglandine gezeigt worden (12, 174, 406).

Wirkungen von c-AMP und agonistisch wirksamen Substanzen auf membranphysiologische Parameter

(Literatur)

E_m	R_m	gK	I_{K^+}	gNa	$I_{Na^+}^O$	I_{ion}	Trans- port	Ca^{++}	el.gen. Pumpe	CA	Rezep- tor	Th. Beding.	Gewebe	Ref.
↓	↓	↑		(↓)									Leber- zelle	(370)
↓		(↑)		(-)							β ↑	Isopro- terenol $Na^+_O = 0$ mM	glatte Muskel- faser	(371)
↓	↑	↓										K^+_O ↓	"	(371)
(-)												Isopro- terenol K^+_O ↓		(371)
(-)												$K^+_O = 10$ mM	"	(371)
											β ↑	$Na^+_i = 0$	"	(371)
↓		↑							↑ ?			Adrenalin $K^+_O = 6$ mM	"	(371)
							↑	$I_{Ca^{++}}^O$	↑ ?			Isopro- terenol	"	(14)
↓	↑								(↑)				Skelett- muskel- faser	(371)
↓			↑						↑ ?			Isopro- terenol	"	(371)

E_m	R_m	gK	I_{K^+}	I_{Na^+}	I_{ion}	Trans- Ca^{++} port	el.gen. Pumpe	CA	Rezep-tor	Th. spez. Beding.	Gewebe	Ref.
↓	↑		↑	↑			↑	NE			Skelett-(51) muskelfaser	
			↑	↑		↑		NE		Vasopressin	Froschhaut	(245)
			↑	↑		↑			↑	Vasopressin	Krötenblase	(298)
			↑	↑		↑			↑		"	(40)
			↑	↑		↑	?			c-IMP	"	(117)
↓						Ca^{++} ?				5 HT	Speicheldrüse	(39)
			↑	↑		↑	?	NE	β		Cornea	(412)
			↑	↑		↑	?			Adrenalin	"	(213)
			↑	↑		↑	?	NE	β	Adrenalin	Kalium i.v. (!)	(251)
			↑	↑		↑					Neuron	(142)
										Isoproterenol		

(↑)

(AP)
↑?

E_m	R_m	gK	i_{K^+}	gNa	i_{Na^+}	I_{ion}	Trans- port	Ca ⁺⁺	el.gen. Pumpe	CA	Rezep- tor	Th. spez. Beding.	Gewebe	Ref.
↓	↑						?		?	NE			Purkin- je-Zelle	(169)
IPSP ↓	↑	(-)				?		?	?	NE et al.	$\beta/\alpha!$		sympath. Ganglion	(267)
↓			?						?	NE			"	(215)
				↑					?			↑	Electro plaque	(73)

Th. = Theophyllin $I_{K^+}^i$ = Kaliumeinwärtsstrom $I_{Na^+}^O$ = Natriumauswärtsstrom

I_{ion} = Stromfluß anderer Ionen

Hinsichtlich der Zusammenhänge zwischen Transmittieren und cyclischen Nukleotiden bei ihrer Wirkung auf das Gehirn bzw. neuronales Gewebe ergaben sich in den letzten drei Jahren eine Reihe neuer wichtiger Gesichtspunkte.

1. Die zuerst erhobenen Befunde von Siggins und Mitarb. an der Purkinjezelle des Kleinhirns, die, wie erwähnt, in einige Veröffentlichungen 1973 und 1974 in Zweifel gezogen worden waren (138, 242), konnten inzwischen nicht nur vielfach von den Erstuntersuchern (357), sondern auch von anderen Arbeitsgruppen (409) reproduziert werden.

2. Transmittersensitive Adenylcyclasen konnten inzwischen, auch unter Verwendung intrazellulärer Ableitungstechniken, in vielen Arealen des Gehirns nachgewiesen werden. Vor allem im Hypothalamus (354), im Hirnstamm (323), Corpus striatum (79) und Nucleus caudatus (232) sowie im Hippocampus (350). Weiterhin konnten biochemische oder direkt neurophysiologisch vielfache Anhaltspunkte für hormonsensitive Adenylcyclasen im Kortex gewonnen werden (147).

3. Inzwischen sind für den größten Teil der im Kortex bekannten und in Erwägung gezogenen Transmitterkandidaten sensitive Adenylcyclasen nachgewiesen worden: vor allem für GABA (116), Dopamin (232, 327, 387, 391), Serotonin (146), Acetylcholin (131, 388), Adeno-

sin (246, 345) und Histamin (76). Darüber hinaus bestätigte sich, daß neben den bekannten depolarisierenden Stimulatoren der Adenylcyclase, wie hohes extrazelluläres Kalium, Veratridine oder elektrischer Peizstrom (43, 141, 327), eine Reihe von α und β -Rezeptoren stimulierenden Pharmaka Adenylcyclasen aktivieren und entsprechende Blocker hemmen. Die Frage einer eventuellen Spezifität der Adenylcyclasen-Rezeptoren bleibt somit offen. Westfall (402) bezieht auch zentral die Katecholamin- und c-AMP-Regulation auf Rezeptoren, die peripher parasymphatisch als präganglionär muscarinisch und postganglionär nicotinisch definiert werden.

Einige Autoren sehen ein besonderes Funktionsmerkmal einiger cerebraler Transmitter in ihrer sich gegenseitig antagonisierenden und damit regulierenden Eigenart, ein entsprechender Gleichgewichtszustand hätte damit funktionelle Bedeutung. Ein solcher regulierender Antagonismus wird besonders zwischen Noradrenalin vermitteltem (bzw. Dopamin-vermitteltem) c-AMP und Acetylcholin vermitteltem c-GMP (138) beschrieben. Dabei käme dem cyclischen Adenosin-Nukleotid die inhibitorische, dem Guanosin-Nukleotid die exzitatorische (133, 402) Polle zu. Es ist seit längerem bekannt, daß das Parkinson Syndrom sowohl durch eine dopaminerg als auch anticholinerge Medikation günstig zu beeinflussen ist.

4. Ein weiterer wichtiger Zweig der Forschung im Bereich der cyclischen Fortschritte in der Technik der neuroglialen Gewebekulturen zeigte nicht nur, daß das c-AMP das Zellwachstum hemmt und die Differenzierung triggert (330), sondern auch erneut und deutlicher Wirkungen auf Enzyminduktion und Kationen-transport (245).

Einige Fragen scheinen noch nicht abschließend geklärt:

1.) Die Bedeutung der Glia-Adenylcyclase mit β -rezeptorenartiger Aktivierbarkeit, von Premont (312) neuerdings bestritten;

2.) die Rolle der cyclischen Nukleotide im transmembranalen Aminosäure- und Amintransport (384).

3.) Synaptischen Adenylcyclasen kämen hinsichtlich synaptischer Wiederaufnahmemechanismen, aber auch bezüglich der Befunde und Hypothesen zur transsynaptischen Induktion der Tyrosinhydroxylase (152, 333), dem ratenlimitierenden Enzym der Katecholaminsynthese Bedeutung zu. De Belleruche (35) bestätigte nicht frühere Beobachtungen synaptosomaler Adenylcyclasenaktivität (141, 187), die allerdings gegenüber anderen Hirnfraktionen meist deutlich geringer erschien (179).

4.) Hinsichtlich der Anschlußschritte in der intraneuronalen spezifischen Wirkvermittlung der cyclischen Nukleotide scheint auch im Gehirn der Weg über

die Phosphokinasenaktivierung belegt. Ob, wie und welche Enzymsets sich dann jeweils in der weiteren funktionellen Kette anbieten, wobei auch hier, wie im klassischen Fall der Phosphorylase, Phosphorylierungsvorgänge gezeigt und postuliert wurden (334), bleibt zu klären.

5.) Verbindungen der cyclischen Nukleotide zu den Steuerungsvorgängen der Proteinsynthese und damit zur molekularen Informationskodierung (268). Trotz der Evidenz einer funktionellen Beteiligung cyclischer Nukleotide im Bereich der molekularen Genetik und Transkription (244, 303) ergibt sich kein Schlüssel zu der Frage des missing links zwischen Elektrophysiologie, Informationsverarbeitung und Informationsspeicherung (72, 225). Trotz des attraktiven und nicht ganz von der Hand zu weisenden Verdachts einer diesbezüglichen Rolle der cyclischen Nukleotide ist es denkbar und möglich, ähnlich wie bei anderen sehr ubiquitären Metaboliten, daß sie sich als Epiphänomen noch unbekannter funktioneller Abläufe erweisen.

6.) Die Rolle des Theophyllins in der cerebralen Nukleotidregulation (123) bleibt umstritten. Theophyllin war als wirksam in der Reproduktion oder wenigstens Potenzierung neuronaler Adenylcyclaseneffekte angegeben worden (52, 73, 77, 132a, 223). Durch die Befunde zur antagonistischen Wirkung auf

das nur im Gehirn in seiner cyclasenstimulierenden Eigenschaft wirksame Adenosin (124, 339) wurde die Rolle des Theophyllins fragwürdig. Für die Wirkung von Reizstrom und K^+ auf die Adenylcyclase war eine Vermittlung durch Adenosin vorgeschlagen worden (317, 352). Häufig werden heute andere Esterasenhemmer eingesetzt. Es ist im übrigen evident, daß die Methylxanthine eine Reihe pharmakologischer Effekte haben, die sicher nicht zum c-AMP-System bezogen sind (121). Auch gibt es Hinweise, daß noch andere schwächere Phosphodiesterasehemmer, vor allem vom Diphenylamintyp, antagonisierende Wirkungen im c-AMP-Regulationssystem haben (317).

7.) Funktion des c-AMP im cerebralen Glykogenstoffwechsel. Die Interpretation der auch im Gehirn gefundenen glykogenolytischen Wirkung des c-AMP ist durch Ergebnisse einer c-AMP stimulierten Glykogensynthetase (138a) kompliziert worden. Diesem Problem kommt wegen der möglichen Aktivierung energieverbrauchender Prozesse durch cyclische Nukleotide im Kortex und peripheren Nervensystem besondere Bedeutung zu.

8.) Frage der Beteiligung von c-AMP am axonalen Transport (52a).

9.) Frage der Interaktion von Neuroleptika und Adenylcyclasen (78, 115). Auch Lithium, Hemmer der ATP-ase (208), beeinflusst Adenylcyclasen (78), während

Halluzinogene über den Dopaminrezeptor (178) und übrigens auch Morphine (182) über ihren Rezeptor Adenylcyclasen-aktivierend wirken sollen.

1.4.3 Seit den Untersuchungen zur präsynaptischen Hemmung wird die Beteiligung der γ -Aminobuttersäure (GABA) an Transmissionsvorgängen in Vertebraten diskutiert. GABA wurde zuerst als Vermittler einer erhöhten Chloridleitfähigkeit identifiziert, was wegen $E_{Cl}(>E_m) = (E_{IPSP})$ die gewöhnlich hyperpolarisierenden Eigenschaften gut erklärt (220). Nachdem sich Anhaltspunkte für eine zunehmende Transmitterfreisetzung bei präsynaptischer Hyperpolarisation ergeben hatten, wurde die Rolle von GABA überdacht und überprüft.

Präsynaptisch depolarisierende Eigenschaften konnten gezeigt werden, sie sind mit Picrotoxin und Bicucullin blockierbar. Eine weitere Denkmöglichkeit blieb die Hyperpolarisation an der GABAergen Terminale. Für die Vermittlung depolarisierender Eigenschaften wurde eine Natriumleitfähigkeitsvermittlung vermutet (373). Neuere Messungen an Dorsalwurzelterminalen und Zellen der Afferenzen im Spinalganglion zeigten eine Abhängigkeit des oberhalb des Membranpotentials liegenden GABA-Gleichgewichtspotentials von der extrazellulären Chloridaktivität, was zu der Überlegung führte, ob nicht auch die präsynaptische Hemmung über eine GABAerge Vermittlung

der Chloridleitfähigkeit erklärbar sei, wobei allerdings auch ein depolarisierendes Chloridgleichgewichtspotential postuliert werden muß (Nishi, 1974). Im Bereich der physiologisch und pharmakologisch so vielfach gezeigten präsynaptischen Hemmung steht die Frage noch offen, warum es vergleichsweise mit Schwierigkeiten verbunden ist, morphologisch axo-axonale präterminale Synapsen darstellen zu können.

In neueren Arbeiten konnten auch am Rückenmark postsynaptisch hyperpolarisierende Eigenschaften von GABA gezeigt werden. Im Kortex sind fast ausschließlich hyperpolarisierende Eigenschaften der γ -Aminobuttersäure beobachtet worden, wobei einerseits GABA als sehr potenter Inhibitor erscheint, weil entsprechende Effekte schon bei minimaler Substanzfreisetzung bzw. außerordentlich kurze Freisetzungsdauer beobachtet werden (162, 372, 393), es andererseits aber Schwierigkeiten macht, die Kinetik von GABA, das als Decarboxylierungsprodukt der Glutaminsäure ubiquitär im Membranstoffwechsel anfällt, zu verfolgen. Auch für die Wirkungen von GABA im ZNS wird eine Vermittlung der Chloridleitfähigkeit postuliert, für kortikale GABAerge Effekte wurde dieses Modell allerdings kritisiert.

Die Beziehungen des GABA-Systems zur Glia sind noch unklar, es gibt Hinweise, daß GABA eine alpha- oder beta-stimulierende Wirkung auf Gliazellen hat.

Im Zusammenhang mit den Befunden, daß GABA in höherer Konzentration Gliazellen hyperpolarisierte, wurden Vermutungen sowohl in Richtung auf eine Kaliumleitfähigkeitserhöhung als auch in Richtung der Aktivierung von Transport angestellt. GABA kann in unphysiologisch hoher, 0,1 molarer Konzentration zu einer gesteigerten Kaliumabgabe des Kortex führen. In einer neueren Studie fand sich keine GABAerge Aktivierung der Na^+K^+ -ATPase in Hirnhomogenaten der Ratte (288).

Viel untersucht ist der Zusammenhang zwischen GABA und der Epileptogenese (408). Es wurde dabei von der bekannten krampfinduzierenden Wirkung der GABA-Antagonisten Picrotoxin und Bicucullin ausgegangen. Obwohl GABAerge Substanzen wie Bactofen tatsächlich eine gewisse antikonvulsive Potenz haben, ist die Rolle von GABA in der Epileptogenese unklar durch die erhebliche Anzahl der Befunde, daß sowohl konvulsive als auch antikonvulsive Substanzen Veränderungen im GABA-Stoffwechsel des Gehirns in jeweils beide Richtungen, fördernd und hemmend, nach sich ziehen. Es wurden deshalb Überlegungen und Untersuchungen angestellt, ob Substanzen, die auf die GABA-Enzyme GABA-Dehydrogenase und GABA-Transferase einwirken, zugleich einen oder mehrere Faktoren der GABA-Wirkung am postsynaptischen Rezeptor beeinflussen (und vice versa).

1.5

1.5.1 Ausgehend von den Gleichungen zur Diffusionspotentialbildung

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{u_{Na^+} + u_{Cl^-}}{u_{K^+} + u_{Cl^-}}$$

(1 molare NaCl/KCl Phasen)

und ihrer Nutzung zur Berechnung der Potentialbildung an semipermeablen Membranen $E = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_1}{a_2}$ (a = Aktivität) wurde die Methode der potentiometrischen Messung beliebiger Ionenarten bei Verwendung entsprechend selektiv permeabler Membranen entwickelt. Dabei kamen in erster Linie ionenselektive Glasarten zur Anwendung, für deren Potentialbildung vereinfachend unter Berücksichtigung einer konstant gehaltenen Phase gilt:

$$E = \text{const.} + \frac{RT}{F} \ln a \quad (218)$$

Unter Einbeziehung eines zweiten Ions mit geringerem Selektivitätskoeffizienten K_{J_1/J_2} gilt:

$$E_{J_1} = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{J_1} + K_{J_1/J_2} a_{J_2}}{a_{J_1 \text{ref.}}} \quad (\text{Neher, 1975})$$

wobei $a_{J_1 \text{ref.}}$ die konstante Konzentration in der Referenzphase darstellt. Eisenmann (110) hielt das Aluminium/Natriumverhältnis im Glas für einen Faktor, der die Selektivitätseigenschaften definiert. Auch die anionische Feldstärke der Glasoberfläche scheint die Selektivitätseigenschaften mit zu beeinflussen. Unter Verwendung entsprechender Gläser gelang erstmals Hinke (164) die Herstellung ionensensi-

tiver Mikroelektroden. Durch die Einführung von flüssigen Ionenaustauschern in die Potentiometrie vor allem cyclischer Makrotetrolitide (13,374a,374b) und cyclischer Antibiotika (311), ergaben sich neue technische Möglichkeiten. An der "Membran"-Innenseite hat die Austauscherphase Kontakt mit einer konstant gehaltenen Salzlösung. Ein ionischer Anteil davon wird von dem Austauscher aufgenommen bzw. ausgetauscht (65). Es bildet sich ein stabiles Grenzflächenpotential. Die Chloridionen der Lösung (im Falle eines Kationenaustauschers) bilden ihrerseits mit einer internen Ag/AgCl-Referenzelektrode ein stabiles Potential. Kommt die Außenfläche der "Membran" mit einer Lösung in Berührung, so reagieren deren "selektive" Kationen mit dem Ionenaustauscher proportional dem Durchtritt von Ladungen durch die Membran, dann wird das Potential der Meßkette verschoben, die Potentialveränderungen verhalten sich über einen weiten Bereich nernstisch. Einige der komplexbildenden Ionenaustauscher erwiesen sich, wohl in Abhängigkeit ihrer Lösungsvermittler und damit ihres spezifischen Widerstandes als geeignet zur Herstellung ionensensitiver Mikroelektroden. Das heute dabei verwendete Verfahren wurde im wesentlichen von Walker u. Brown (400) für eine chloridsensitive Mikroelektrode angegeben, wenig später für Kalium-sensitive Mikroelektroden (87)

von der gleichen Arbeitsgruppe nachvollzogen. Dabei zeigte sich der Austauscher Corning 477137 als ausserordentlich geeignet, so daß nach Lösung einiger elektronischer meßtechnischer Probleme heute sehr schnelle und stabile Aufzeichnungsmöglichkeiten für K^+ vorwiegend im Extrazellulärraum, aber auch im Intrazellulärraum zur Verfügung stehen.

1.5.2 Die aus den Techniken der Makroiontophorese hergeleitete Mikroelektrophorese (90, 229, 373) benutzt die Eigenart der meisten Substanzen, in einem polaren Medium Oberflächenladungen anzunehmen, durch Ionisierung oder Ladungsadsorption bzw. Dissolution. Im elektrischen Feld verhalten sich dann Substanz (und Medium) ihrer Ladung entsprechend. Im Falle der Mikropipette hat auch die Glasoberfläche eine Ladung, die bei entsprechendem elektrischen Feld eine relative Gegenbewegung der Oberfläche gegen den Ionenstrom bewirkt. In einem zweiten, möglicherweise interagierender Phänomen, der Elektroosmose, erfolgt die gedachte Gegenbewegung der geladenen Wand gegen das Medium, was zu einem Ausstrom des Mediums führt. In beiden Fällen entwickeln sich gegenläufige elektromotorische Kräfte, die das Gesamtverhalten der Substanzfreisetzung mit beeinträchtigen können. In sauren Medien neigen viele Substanzen zur Wasserstoffadsorption und entsprechend positiver Oberflächenladung. Die Iontophorese über positiven Strom wird

bevorzugt, weil dabei die Elektroosmose gegen die meistens negativ geladene Glaswand mit zum Tragen kommt.

Weitere Faktoren, die die Freisetzungseigenschaften der Mikropipetten mit beeinflussen, sind Spitzendurchmesser, Konzentrationsgradienten und damit das Diffusionsverhalten und der elektrische Widerstand. Die Verwendung von Haltepotentialen gegen die Spontandiffusion ist üblich (170). Weiterhin kann offenbar hydrostatischer Druckunterschied die Freisetzungseigenschaften der Elektroden mit beeinflussen. Dieser Faktor scheint bei Elektroden spitzen von $5\ \mu$ bereits erheblich. Die antagonisierenden Kapillarkräfte sind der vierten Potenz des Öffnungsradius proportional. Der Anteil, in dem der Stromfluß durch Transport des gewünschten Ions gegeben ist, wird weiterhin durch substanzspezifische Konstanten, etwa der Transportzahl, charakterisiert. Hoffer (170) fand, daß die theoretisch freigesetzte Menge, die eine lineare Funktion von iontophoretischer Stromdichte und Zeit, d.h. der totalen Ladung, sein sollte, sich in der Praxis nicht verwirklichen läßt. Er fand bei Elektrodenimpedanzen zwischen 20 und 100 Meg Ω , daß zwar die freigesetzte Menge häufig in Beziehung zu Stromstärke und Spitzendurchmesser stand. Wiederholt aber ergaben sich nicht vorauszusagende Abweichungen, so etwa bei Stromfluß ein Ausbleiben der Substanz-

freisetzung. Prinzipiell erscheint die Substanzfreisetzung im Gehirn gegenüber der in Kochsalzlösungen reduziert. Weiterhin ergab sich bei Elektroden-spitzen zwischen 3 und 6 μ , entsprechend den Voruntersuchungen, Spontanfreisetzung, die in den sog. "drogenfreien Pausen" einen Haltestrom erforderlich machte. Probleme ergeben sich immer wieder hinsichtlich der pH-Einstellung (273, 332, 376). Curtis (90) zeigte, daß die Pufferkapazität des Extrazellulär-raumes ausreichend ist, um Lösungsansäuerungen bis pH 2 abzudecken; eine deutliche Zunahme exzitatorischer Effekte bei intracorticaler Noradrenalin-Iontophorese wurde in pH-Bereichen unter 4 gesehen (376). Prinzipiell ist aus Voltage clamp-Experimenten bekannt, daß mit sinkendem pH die Natriumleitfähigkeit abnimmt (163); dennoch scheint es zugleich, daß die Membran depolarisiert und von daher möglicherweise unter den Bedingungen des Compartments exzitatorische Effekte zu sehen sind.

Walker u. Brown (400) sind dieser Frage mit Chlorid-sensitiven Elektroden nachgegangen und fanden bei *Aplysia* eine Abhängigkeit der K^+ -Wirkungen von E_{Cl^-} . In einigen Geweben scheint die K^+ -Aufnahmefähigkeit pH abhängig (64).

Trotz der relativen Eleganz der Methode und ihrer langjährigen Bewährung sind immer wieder Einwände gemacht worden - gerade bei pharmakologischen Experimen-

ten - wegen der nicht ganz zu überschauenden Möglichkeit von pH und Stromartefakten, abgesehen von den häufig störenden, sehr deutlich sichtbaren kapazitiven Kopplungen mit dem Ableitestrom. Alternativ wird von den Kritikern der Iontophorese die Technik der Mikroinjektion (154) empfohlen .

2.

Methodik

2.1 Die Untersuchungen wurden an Katzen (2,5 - 4 kg Körpergewicht) durchgeführt. Nach Narkoseeinleitung mit Epontol i.v. und anschließender Tracheotomie unter Verwendung einer T-Kanüle wurden die Tiere mit Gallaminetriethiodide (Flaxedil^R) in einer Dosis von 10 mg/kg/h i.v. immobilisiert und unter Verwendung eines Bennett-Respirators im halboffenen System künstlich beatmet. Die Narkose erfolgte über ein N₂O-Sauerstoffgemisch (70:30) unter Beifügung von Halothane. N₂O/O₂ Narkosen haben keinen Einfluß auf den zentralnervösen O₂-Verbrauch. In Versuchen am nicht anästhetisierten, immobilisierten Tier hatte sich gezeigt, daß die verwendeten Narkosemittel einen - wenn überhaupt - nur geringgradigen Effekt auf die K⁺-Aktivitäten in den untersuchten kortikalen Regionen hatten. Auch Gallamine, von dem sowohl Krampfschwellen herabsetzende als auch erhöhende Eigenschaften berichtet wurden (282), hatte keine erkennbare Auswirkung auf die K⁺-Aktivitäten, wenn etwa die Dauerperfusion abgestellt wurde und ein Wiedereintreten der neuromuskulären Erregbarkeit abgewartet wurde. Barbiturate senken den Sauerstoffbedarf des ZNS. Außerdem scheinen sie einen länger dauernden depressorischen Einfluß auf die reizinduzierten K⁺-Kinetiken in den abgeleiteten Regionen zu haben (42, 157, 212), so

daß Ultrakurznarkotika bevorzugt wurden. Für eine erhöhte P_{K^+} durch Nembutal^R (340) ergaben sich keine direkten Anhaltspunkte.

Nach sorgfältiger intrakutaner Lokalanästhesie mit Scandicain im Bereich des äußeren Gehörganges und der Orbita erfolgte Fixierung in einem stereotaktischen Gerät. Zur Messung des CO_2 -Gehaltes in der Expirationsluft mit Richtwerten zwischen 3 und 3,5% diente ein Uras- CO_2 -Analysator. Die Körpertemperatur wurde während der Versuchsdauer (bis zu 36 Stunden) über ein Thermometer und eine Heizautomatik auf 37° gehalten, der Zustand der Tiere konnte durch i.v. Elektrolytinfusionen (2 - 4 ml/h) stabilisiert werden.

In dem anschließenden operativen Vorgehen wurde die Kopfhaut sagittal bis weit nach caudal gespalten, die Kalotte zunächst einseitig freigelegt und eine ca. 1 cm² große Trepanation occipital para sagittal durchgeführt, wobei der Gyrus lateralis und Gyrus suprasylvius freigelegt wurden. Diese Regionen entsprechen der Area 17 und 18 (nach Brodmann). Anschließend wurde unter Verwendung der Horsley-Clarke-Atlanten eine Reizelektrode nach entsprechender Trepanation im Corpus geniculatum laterale gesetzt (a7 L9). Es wurden dabei konzentrische Bipolarelektroden benutzt, die Lokalisation wurde mit Hilfe des evozierten Potentials rektifiziert. Der Kortex wurde vor Eröffnung der Dura mit einer auf 37° erwärmten Lösung

nach Locke (250) superfundiert. Den registrierenden Elektroden wurde die Dura in einem jeweils nur 2 mm^2 großen Areal eröffnet. Nach Implantation der Elektroden unter stereomikroskopischer Kontrolle (über einen auf $1 - 3 \mu$ Schritte geeichten Mikrotrieb), wurde das Operationsgebiet mit einem unter Verwendung der Locke'schen Lösung hergestellten Agar und anschließend einer dünnen Wachsschicht abgedeckt. Effekte der Temperaturschwankungen und der Veränderungen des Milieus - etwa durch Austrocknung - konnten so weitgehend verhindert werden.

Da die günstigste Kontrollierbarkeit und größte Variabilität durch die Iontophoresetechnik ermöglicht wird, sind alle anderen Applikationsformen nur zu Vorversuchen eingesetzt worden. Es zeigte sich, daß hinsichtlich der Wirkungen gleiche Effekte durch Mikroinjektion wie durch die Iontophoresetechnik erzielt werden konnten. Außerdem war in Leerversuchen durch die bloße Wirkung des Stromflusses kein den pharmakologischen Effekten vergleichbarer Befund gesehen worden. Bei der Anwendung der Superfusionstechnik waren für cyclisches AMP und Noradrenalin keine pharmakologischen Effekte bemerkt worden. Bei den Untersuchungen mit Theophyllin zeigte sich eine wesentlich andere Auswirkung als unter der lokalen Applikation, auf dessen Interpretation später eingegangen wird. Insgesamt erschien damit die Superfusionstechnik nicht geeignet. Pharmakologische Experi-

mente mit der Superfusionstechnik können unter anderen Fragestellungen aber erfolgreich sein (128, 230).

2.2 Wie inzwischen mehrfach angegeben, bieten sich zur Herstellung der Elektroden 2 - 3,5 mm dicke Glaskapillaren mit einer Wandstärke von 0,5 - 0,9 mm an, in deren Querdurchmesser "thetaartig" ein planes Mittelstück eingeschmolzen ist.

2.2.1 Zur Vermeidung von elektrischen Lecks, sie machen die Elektrode unbrauchbar, werden die auf ca. 10 cm gekürzten Röhrchen einseitig weiterverkürzt und so die Öffnungen gegeneinander versetzt.

2.2.2 In einer Lösung aus 30%igem H_2O_2 und konzentrierter Schwefelsäure im Verhältnis 1:3 gereinigt, werden die Elektroden anschließend mehrere Stunden lang in Aq. bidest. gewässert. Sie können in Aceton aufbewahrt werden und bleiben für einige Tage brauchbar. Zur Verbesserung der Elektrodenhaltbarkeit wurden die Herstellungsbedingungen getestet und gefunden, daß sich der Aufwand "quasi-sterilen" Arbeitens auszahlt. Eine der so hergestellten Elektroden erreichte eine 3-wöchige "Lebensdauer". Vor Gebrauch ist Lufttrocknung möglich; das Trocknen im Brutschrank bei 100° wurde vorgezogen. Anschließend wurden beide Elektrodenenden mit einer Folie (Parafilm^R) abgedichtet. Halbarkeit und Quali-

tät hängen mit Staubfreiheit des Elektroden-Innenraumes zusammen.

Die Elektroden wurden dann, nach der üblichen Technik, mit einem vertikalen Puller gezogen, wobei durch Variieren von Magnetkraft und Schmelzhitze ca. 2 - 3 cm lange trichterförmige Spitzen geformt werden. Kürzere Elektrodenspitzen zeigten bessere Füllungseigenschaften, erwiesen sich aber für konstante Ableitungsbedingungen, möglicherweise durch zu große Beschädigung des Kortex, als ungünstig. Die beiden entstehenden Mikropipetten reißen wie üblich an der Spitze ab, die Durchmesser der Spitzen liegen bei 0,5 und 1 μ . Alternativ wurde auch das früher beschriebene Verfahren zweier Einzelelektroden, die ebenfalls nach üblichen neurophysiologischen Techniken gezogen werden, benutzt. Referenz und sensitive Elektrode werden nach entsprechender Vorbereitung vor Gebrauch an den Spitzen zusammengeklebt.

Spitzendurchmesser unter 2 μ stellen einerseits Impedanzprobleme, andererseits erschweren sie nachfolgende Arbeitsgänge der Elektrodenfüllung, so daß man die Spitzen etwas anbricht. Wegen des Aufwands nur versuchsweise wurden V-förmige Spitzen mit vorstehendem Querstück geschliffen. Elektrodeneigenschaften und Haltbarkeit waren ausgezeichnet. Es wurde auf staubfreien Arbeitsplatz und Elektrodenhaltung hingearbeitet. Anschließend wurden mit feinen, möglichst

sterilen Injektionsnadeln der Referenzkanal mit steriler 0,9% NaCl, der ionensensitive Kanal mit steriler 100 mM KCl, gefüllt. Thetaelektroden haben die Eigenschaft, sich rasch füllen zu lassen, weil Kapillarkräfte die injizierte Lösung rasch in die Spitze befördern.

2.2.3 In den ionensensitiven Kanal wird dann mit Deiberit-Wachs ein Teflonschlauch fixiert. Es erwies sich zur Beschleunigung des Arbeitsvorganges als günstig, den Schlauch an einen 3-Wege-Hahn anzuschließen, auf dessen zwei freie Ausgänge jeweils ein druck- und ein vakuumproduzierendes System gelegt wurde. Die Elektrode wurde dann üblicherweise in einer Halterung fixiert, unter der Fotoküvetten mit Silan und Ionenaustauscher so angebracht sind, daß sie sich rasch hin- und herschieben lassen. Ein besonderes Problem in der Elektrodenherstellung stellte sich durch die Silikonisierung. In der Literatur wird meist Dimethyldichlorsilan 2% in Trichloräthylen empfohlen. Der lipophile Ionenaustauscher läuft im Kortex rasch aus, wobei offenbar das Silikonisierungsverfahren ein wichtiger Faktor ist, so daß die Elektroden höchstens für einige Stunden, meist aber kürzer, in situ zu verwenden waren. Das vorgeschlagene Verfahren, die Silikonisierung der Glaswand durch "Backen" der Elektroden, d.h. Erhitzen auf etwa 250° zu verbessern, brachte keine wesentlichen Vor-

teile. Der Siedepunkt von Dimethyldichlorsilan liegt bei 75°C. Der Arbeitsaufwand ist durch die Schwierigkeit, dabei von hinten KCl mit dem Austauscher zu verbinden, vergleichsweise sehr groß (396). Die Silane bilden unter Reaktion mit Siliziumatomen des Glases und Wasser auf der Glasoberfläche Autopolymere (Silikone), die der Glasoberfläche ihre außerordentliche hydrophobe und entsprechend lipophile Eigenschaft verleihen. Da die Silikonisierungseigenschaften des Dimethyldichlorsilans nicht ausreichend erschienen, wurde eine Testserie mit einer Reihe weiterer Silane angesetzt. Es wurden untersucht: Methylphenyldichlorsilan, Äthyltrichlorsilan, Methyltrimetoxysilan und Vinyl-functional-silan sowie Trimethylchlorbutylsilan. Alle Silane wurden zu 1%, 5% und 10% in Tetrachlorkohlenstoff, Trichloräthylen und Trichloressigsäure gelöst. Die Silane wurden ausgewählt unter dem Gesichtspunkt des Siedepunkts, um eventuelle Backverfahren anzuschließen. Es erwies sich, daß die Verwendung von Trimethylchlorbutylsilan 5% in Trichloräthylen Stabilität und Haltbarkeit der Elektroden ausreichend verbesserte. Obwohl Trimethylchlorbutylsilan etwas schwieriger in die Elektrodenspitze einzubringen ist, scheinen seine Silikonisierungseigenschaften hinsichtlich der gestellten Anforderungen überlegen.

Zum Füllen der Elektrode wird die Elektroden spitze in die entsprechende Silanlösung getaucht. Trimethylchlorsilan drang nicht spontan in die Spitzen ein, so daß eine Druckanwendung auf dem Referenzkanal nicht erforderlich war. Durch Schluß mit dem Unterdrucksystem wurde, unter mikroskopischer Sicht Silan 200 - 500 μ hoch in die Spitze gesaugt, Dann entfernt man durch Schluß mit dem Drucksystem ein übliches Pressluftleitungssystem, mit ultrafeinen Öl- und Staubfiltern vor den Ausgängen, das Silan wieder aus der Spitze.

2.2.4 Nach raschem Kuvettenwechsel aszendiert der Ionenaustauscher meist spontan, wenn der Druck vom System genommen wird. Es kann aber auch hierbei mit Unterdruck nachgeholfen werden. Bei Verwendung des Austauschers Corning 477317 hatten die sensitiven Kanäle Impedanzen von 200 - 500 Meg Ω . (Referenz 5 - 20 Meg Ω). In Alternativversuchen mit Orion Potassium Exchanger (Valinomycin) war es nicht möglich, auch bei Spitzendurchmessern von 8 μ und Füllhöhe 200 μ , Impedanzen um 1 Gig Ω zu unterschreiten. Erwartungsgemäß boten die Elektroden am Versuchstier zahlreiche Stabilitäts- und Abschirmungsprobleme und waren überdies meist nach kurzer Zeit ausgelaufen. Offenbar sind die Lösungsvermittler für die "elektrischen" Eigenschaften der Austauscher entscheidend.

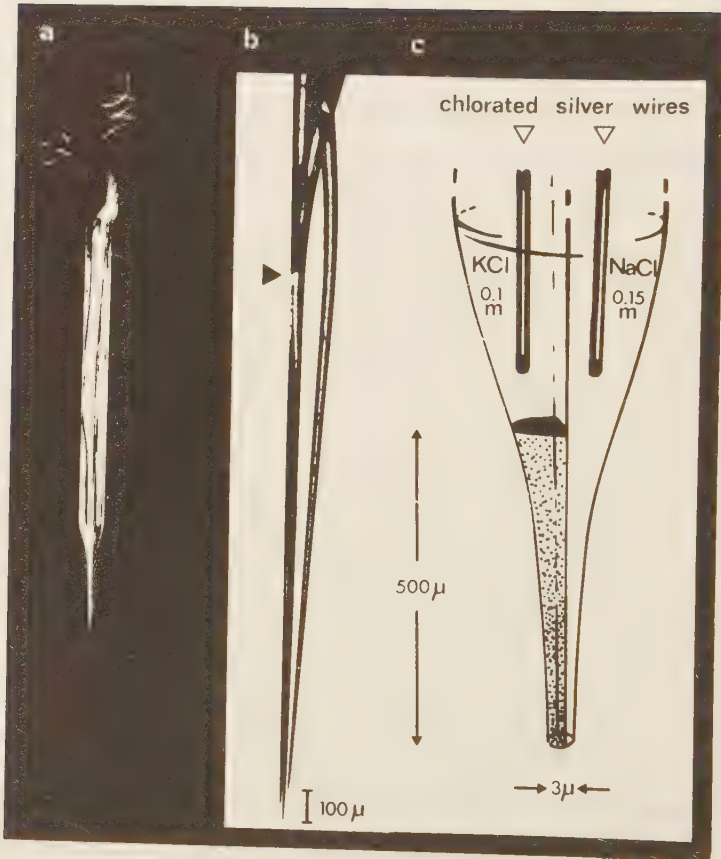


Abb. 1

a) Kaliumsensitive Theta-Elektrode. Beide Silberdrähte in den Kanälen erkennbar. b) Spitzen dreier zusammengeklebter Elektroden. Phasengrenze Ionenaustauscher/KCl durch Pfeil markiert. c) Schematische Darstellung der Spitze einer ionensensitiven Mikropipette.

Mit Deiberit-Wachs werden chlorierte Silberdrähte in den Kanälen fixiert und unter Verschuß der Öffnungen ausreichend gegeneinander isoliert. Die Verwendung von Agar im Elektrodenlumen erschien stabilitätsfördernd, eine besonders sorgfältige Chlorierung der Silberdrähte ist ohnehin grundlegend, da viele Drifts hier ihre Ursache hatten.

2.2.5 Bei anschließender Impedanzmessung werden zu nieder- (Leck!) und hochohmige Elektroden aussortiert; die geeigneten in 0,1 M KCl, wenn möglich steril angesetzt, staubfrei aufbewahrt. Stundenlange Equilibrierung erscheint nicht nötig, die maximale Sensitivität reduziert sich allerdings meist nach 1 - 2 Stunden. Die besten erreichten Konzentrationsdekaden-Potentiale lagen bei 55 mV, durchschnittliche bei 45 - 50 mV, noch tolerierten bei 40 mV. Vor und nach experimenteller Anwendung sind Dekaden-Testungen (3 - 30 mM KCl) erforderlich.

In der sensiblen Phase des Anklebens der Iontophorese-Elektroden konnte die Haltbarkeit dadurch erhöht werden, daß während des Klebevorganges die sensitive Elektrodenspitze durch eine großlumige KCl-gefüllte Kapillare vor Austrocknung und Verschmutzung geschützt wurde. Unter mikroskopischer Sicht werden die abgebogenen "Phorese"-Spitzen plan neben die Spitze der sensitiven Elektrode angefügt und am Knick-

punkt mit Q-Dope^R fixiert. Zur stabilen Verklebung beider Elektroden eignet sich Uhu-plus P sofortfest. Nach diesem Verfahren wurden 1 bis 2 Theta-Elektroden an der sensitiven Elektrode befestigt, so daß insgesamt 4 Iontophoresekanäle zur Verfügung standen. Die Spitze der ionensensitiven Elektrode war gegenüber den Phorese-Spitzen um einige 10 μ nach vorn versetzt. Die radiale Abweichung zwischen zwei Elektroden Spitzen sollte nicht mehr als 50 μ betragen.

2.3

2.3.1 Die technischen Einzelheiten der Registrierung von Signalen mit K⁺-sensitiven Elektroden sind von einer Reihe von Autoren veröffentlicht worden, wobei in den vorliegenden Versuchen die von Lux u. Neher (257) sowie Neher u. Lux (290) und Neher (290a) angegebenen Verfahren verwendet wurden. Das K⁺-Signal wird über einen Ag/AgCl Silberdraht auf einen unmittelbar hinter der Elektrode liegenden Vorverstärker gegeben. Die RC Belastung des Signals durch den hohen elektrischen Widerstand der sensitiven Elektroden (bis zu 10¹⁰ Ω) und die gerade bei Doppelwand-Elektroden auftretenden kapazitiven Kopplungen ist erheblich. Die von Lux u. Neher verwendeten Differentialverstärker (Philbrick 1026) haben hohe Eingangswiderstände (10¹³ Ω). Die Eingangserschaltung der MOS-Feldeffekt-Transis-

toren entspricht der alten Kathodenfolgerschaltung. Weitere Verbesserung kapazitiver Probleme wird durch eine Kapazitätsneutralisationsschaltung erreicht. Nur durch die elektronischen Eigenschaften ist es möglich, Kapazitäts- und Spannungsteiler-Effekte zu vernachlässigen.

Am Ausgang des ersten Verstärkers (Impedanzwandler) erscheint 1:1 das Signal mit niedrigem Innenwiderstand und wird nachfolgend 1:10 verstärkt. Dasselbe Bauprinzip gilt für den Vorverstärker des Referenzpotentials. In dem nachgeschalteten Differentialverstärker wird das Referenzpotential vom Gesamtpotential des K^+ -sensitiven Eingangs abgezogen und so das K^+ -Potential auf seinen eigentlichen Wert gebracht. Die genaue Einstellung der Subtraktion des Referenzpotentials ist für die Schnelligkeit und Genauigkeit der K^+ -Messungen notwendig und wird technisch durch die Gleichtaktunterdrückungsrate (common mode rejection rate) bestimmt. Die den beiden Eingängen gemeinsamen Spannungsanteile (Gleichtaktspannungen) gehen geringfügig mit in den Wert der Ausgangsspannung ein, so daß die CMRR angibt, um wieviel weniger ein Gleichtaktsignal (das arithmetische Mittel beider Eingangsspannungen) verstärkt wird als ein großes Differenzsignal. Die CMRR liegt bei den verwendeten Schaltungen unter 1%. Schwierigkeiten entstehen durch die unterschiedlichen RC-Eigenschaften beider Elektro-

den. Für die Kapazität gilt gleicherweise, daß sie in Abhängigkeit von den Registriertiefen zwischen 3 und 30 pF liegen. Zur optimalen Abgleichung beider Vorverstärker ist es erforderlich, die Kapazitätsneutralisation für die K^+ -Elektrode zuerst vorzunehmen. Zusätzlich zur Differentialableitung kann das Referenzpotential gegen die Ag/AgCl-Masse-Elektrode abgeleitet werden.

Auch die Erfassung des ECoGs erfolgte zwischen zwei chlorierten Silberpellets über einen Differenzverstärker, bei dem ein Eingang über die Ag/AgCl-Elektrode auf Masse liegt. Zur Kalibrierung und Testung der Elektrode gehören mehrere Schritte: einmal mußte durch Testlösungen die Kennlinie der Spannungskonzentrationsbeziehung ermittelt werden, wobei sich die Konzentration gegenüber der Spannung unter 3 mM Kalium nicht mehr logarithmisch verhält, hier macht sich die geringe Natriumsensitivität des Ionenaustauschers bemerkbar, dessen Selektivitätskoeffizient unter 0,01 liegt. Zur Auswertung der gängigen Messungen wurden Eichtabellen benutzt, die auf gemittelte experimentelle Auswertungen von 10 K^+ -Elektroden basierten. Zudem ist bekannt, daß der benutzte Ionenaustauscher auf einige Stoffe sensitiver reagiert als auf Kalium oder Natrium. Es war infolgedessen notwendig, jedes geprüfte Pharmakon auf seine eventuelle Interaktion mit dem Ionenaustauscher hin zu überprüfen. Sensitiver

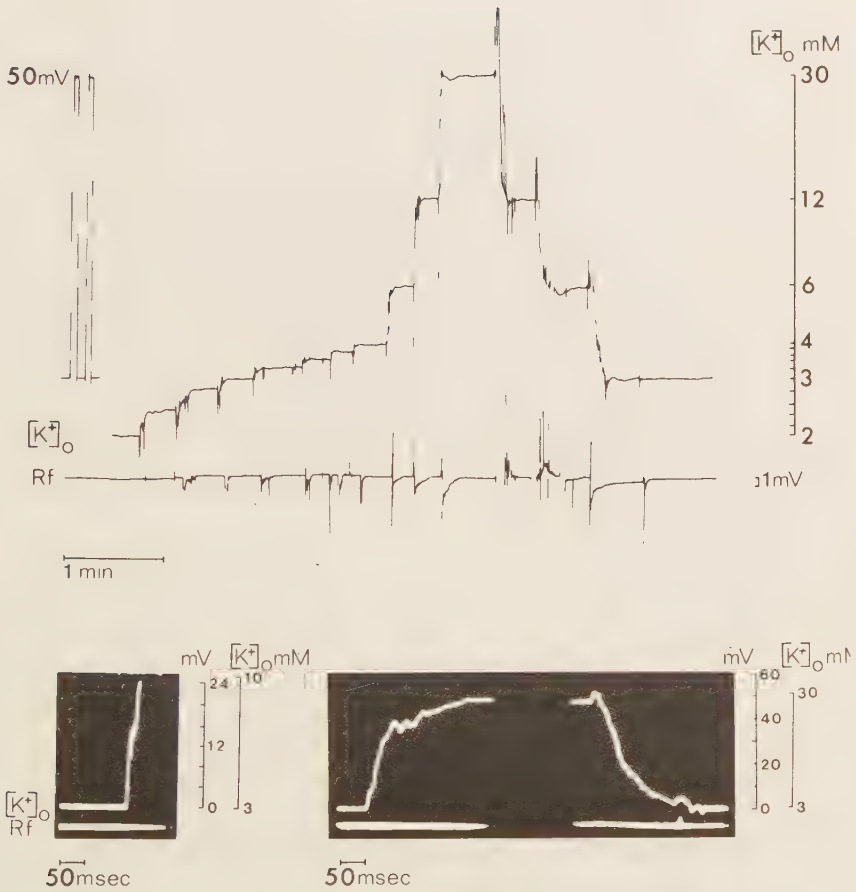


Abb. 2

Eichkurve einer ionensensitiven Mikroelektrode, Verwendung von KCl-Lösungen definierter Konzentration. Unten links: Testung der Ansprechzeit durch Drucksuperfusion in kleinem Testbecken (5-20 msec). Unten rechts: Gleiche Testbedingungen. Kaliumkonzentrationsdekade. Ein wesentlicher Teil des entsprechenden Potentialsprunges der Elektrode wird in 50-100 msec erreicht.

als Kalium ist Acetylcholin, etwa um zwei Zehnerpotenzen; da Acetylcholin im Kortex bei normaler Esterasenaktivität eine Konzentration von 10^{-6} Mol nicht überschreitet, dürfte Acetylcholin keinen Störfaktor im Bereich der gemessenen Aktivitäten darstellen.

Unter den untersuchten Substanzen konnte für Theophyllin in höher konzentrierten Lösungen eine geringe potentialbildende Interaktion mit dem Austauschergesehen werden. Bei iontophoretischen Untersuchungen oder auch Überspülungsexperimenten im verwendeten Konzentrationsbereich zwischen 0,025 und 0,1 mM zeigten sich ebenso wenig Störpotentiale wie bei iontophoretischer Applikation in entsprechenden Testansätzen.

2.4 Aus der nachfolgenden Abbildung ist die Verschaltung der Versuchsanordnung ersichtlich. Alle Signale wurden oszillografisch dargestellt. Gleichzeitig wurde die Aufzeichnung der Daten über ein Ampexband und einen Papierschreiber vorgenommen. Die Reizung erfolgte über erdfreie Reizisoliereinheiten (Tönries). Weiterhin wurde zur Dokumentation eine übliche über dem Oszillografer angebrachte Kamera eingesetzt.

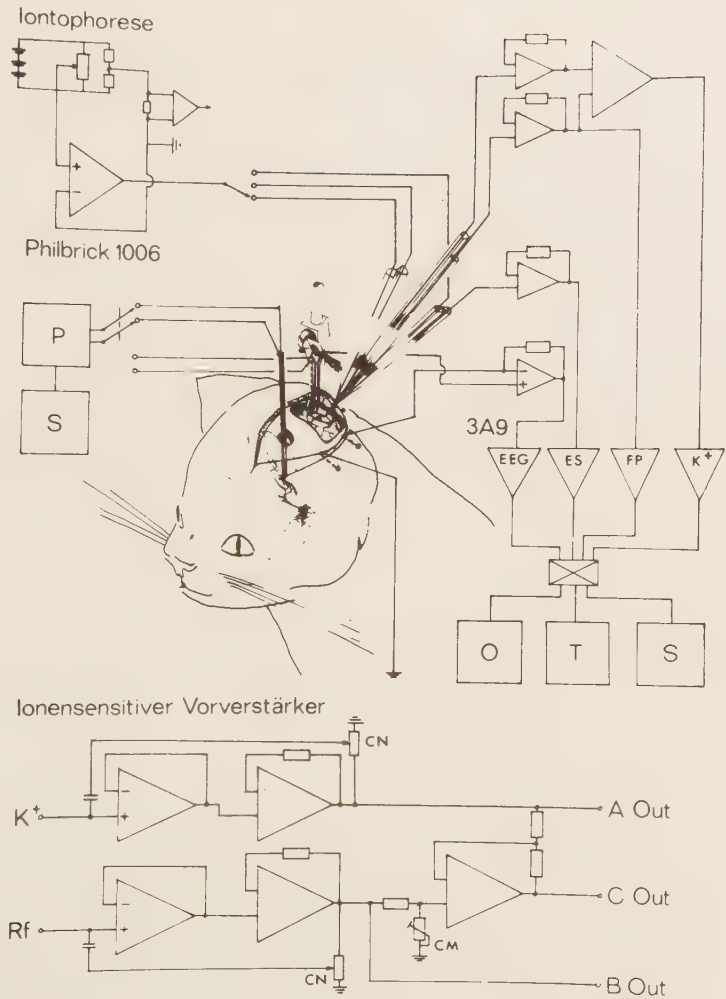


Abb. 3

Oben: Meßkette und Iontophorese im Blockschaltbild. Elektroden werden durch das becherförmige Endstück des Druckfußes in den Kortex gesetzt. R u. S: Reizeinheiten mit Stromquelle und Reizmodulator. Unten: Blockschaltbild des ionensensitiven Vorverstärkers mit Impedanzwandler, nachfolgendem 1:10 Verstärker, Standardkapazitätsneutralisation und nachfolgendem Differentialverstärker. C-out: Kaliumpotential. B-out: Referenzpotential.

2.5 Die Elektroden wurden durch die Bodenöffnung des kleinen wannenartigen Aufsatzteiles eines "pressure foot" geführt. Ein Kugelgelenk in der Halterung erwies sich als praktisch. Die in diesen Druckfuß verlegten chlorierten Silberpellets ermöglichten Oberflächenreizung und ECoG-Aufnahme.

2.5.1 Darüber hinaus erleichterten die Schlauchzuführungen, von denen eine mit einer absaugenden Schlauchpumpe verbunden war, das rasche Austauschen der Lösungen bei Superfusionsexperimenten. Stromlecks konnten durch "Luftbrücken" vermieden werden.

2.5.2 Für Mikroinjektionsversuche wurde eine 30 cm lange Mikroinjektionskanüle (Hamilton) mit einer Elektrodenhalterung auf der einen Seite und über einen Luer-Lock-Verschluß mit einem Mikroinjektionstrieb auf der anderen Seite verbunden. Der Elektrodenhalter wurde so konstruiert, daß es möglich war, mit einem wässrigen System zwischen Kolben und Elektroden spitze zu arbeiten. Meistens genügten die Ringdichtungen im Halter. Zur zusätzlichen Abdichtung bewährte sich Deiberit-Wachs. Die Funktion des Mikrotriebssystems wurde mikroskopisch überprüft und bei nicht zu hoher Viskosität der gelösten Substanzen ließ sich eine befriedigende Lösungsfreisetzung an der Spitze beobachten. Die "mechanischen" Eigenschaften dieses Systems brachten es mit sich, daß alle beigefügten Elektroden einschließlich der sensitiven, abgebogene Spitzen

aufzuweisen hatten, damit die Injektionselektroden in der Mikrotriebhalterung fixiert werden konnten.

2.5.3 Die Mikroelektroden-Iontophorese erfolgte über eine Konstant-Stromquellen-Schaltung (260, 290a). Die eingestellten Stromwerte (in mA) bleiben dabei für Widerstandsschwankungen zwischen 1 und 50 Meg Ω mit höchstens 2%, theoretisch 1% Ungenauigkeit, konstant. Der Strom wird über einen Verstärker (Philbrick 1006) getrieben. Stromkonstanz wird über eine Rückkopplungsschaltung erreicht. Durch massefreien Batteriebetrieb ist "interbarrel"-Elektrophorese möglich.

Die Impedanz der Mikropipetten lag zwischen 5 und 40 Meg Ω , je nach Spitzendurchmesser und Substanz.

Theta-Elektroden sind hinsichtlich ihrer Füllbarkeit sehr vorteilhaft. Die zu untersuchende Substanz wird durch eine Mikroinjektionskanüle in die Elektrode eingebracht und durch "Ausschlagen" schnell und sicher in die in ca. 3-4 mm Höhe abgeboogene Spitze eingebracht. Der Kanal kann dann mit einer leitenden Lösung gefüllt werden. Nach ähnlicher Prozedur im zweiten Kanal werden Silberdrähte eingeführt, die unter Verschluss der Elektrode mit isolierendem Deiberrit-Wachs fixiert werden. Hinsichtlich der Lösungsaufbereitung ist es von Vorteil, hier hochkonzentriertere Lösungen zu verwenden, obwohl hierbei auch die

Gefahr der Spontanfreisetzung erhöht wird, dem aber durch Haltestromtechniken begegnet werden kann. In einigen Experimenten wurde bei relativ großen Spitzendurchmessern diese Technik zu Komplementärexperimenten genutzt. Dabei wurden Effekte nach Öffnung des Haltestroms mit denen nach Schluß des treibenden Stroms verglichen. Die saure Lösung der Substanzen wurde bevorzugt, da hier das Prinzip der Elektroosmose mit zum Tragen kommt. Noradrenalin ist in alkalischen Bereichen schlecht lösbar. Bei DB-c-AMP-Experimenten wurden aus Kontrollgründen alkalische Aufbereitungen eingesetzt. Den theoretischen Erwartungen entsprechend, zeigten sich zwar gleichgerichtete, in der Intensität aber verringerte Effekte unter dem umgepolten, negativen Strom laufenden DB-c-AMP. Dieser Versuch wurde gleichzeitig zum Ausschluß von Stromartefakten durchgeführt. Bei den sauren pH-Einstellungen wurden pH-Bereiche zwischen 4 und 6 gewählt. Schwierigkeiten ergaben sich nur bei der Anwendung von Theophyllin, wegen dessen schlechten Lösungseigenschaften. Sie waren zu umgehen durch kurzfristiges Erhitzen in wässriger Lösung. Die intrakortikale Temperatur erwies sich als ausreichend, um Theophyllin dann langfristig in Lösung zu halten. Für Noradrenalin verwendeten wir eine 1 molare Aufbereitung, für DB-c-AMP eine 0,1 molare Aufbereitung, Theophyllin wurde 0,05 molar gelöst.

2.6 Bei den beobachteten Kaliumkinetiken wurden folgende Parameter gemessen:

- 1.) Das unter Reiz erreichte Kaliumniveau,
- 2.) die Halbwertszeiten im Anstieg und im Abfall,
- 3.) die Gesamtzeit des Abfalls,
- 4.) die erreichte Aktivitätsreduktion (unter Basisniveau) im posttetanischen Unterschwing,
- 5.) die Aktivitätszunahmen bei sekundären positiven Nachschwankungen,
- 6.) die Flächen der Potentialveränderungen über der Zeit planimetrisch, wobei perstimulatorische und poststimulatorische Flächeneinheiten gesondert ausgewertet wurden sowie die Flächeneinheiten der Nachschwankungen,
- 7.) erniedrigte $a_{K_O}^+$ unter subtetanischer CGL Reizung (STD_{K^+} = Subtetanic decrease of potassium),
- 8.) Abfallshalbwertszeit (STD_{K^+})
- 9.) Rückbildungszeit (STD_{K^+})
- 10.) planimetrisch per- und poststimulatorische Fläche über der Zeit,
- 11.) Fläche der positiven Nachschwankung (STD_{K^+})
- 12.) Fläche der Kalimpulse per- und postiontophoretisch.

Um diese Auswertungen vergleichbar zu machen, wurden einheitliche Zeitschreibungen und Verstärkungsfaktoren für jedes Experiment, bzw. jede Serie der pharmakologischen Untersuchungsreihe zuvor festgelegt

und unter dem Experiment nicht variiert. Am günstigsten erwies sich die planimetrische Ausmessung, die mit einem Zeiss-Planimeter, das Flächen bis auf $1/10 \text{ mm}^2$ erfaßt. Obwohl es insgesamt gelang, die Ableitbedingungen meist relativ stabil zu halten, waren durch Grundlinienschwankungen und sonstige Störfaktoren bedingte Unregelmäßigkeiten die Ursache dafür, daß in der planimetrischen Erfassung die eindeutigeren Signifikanzen erreicht wurden und daß andererseits, wie später ausgeführt, die Bestimmung von Zeitkonstanten nicht sinnvoll erschien. Da einerseits möglicherweise durch experimentelle, andererseits durch individuelle Faktoren des jeweiligen Versuchstieres die Korrelation von Reizparametern und Aktivitätsveränderungen große interindividuelle Schwankungen aufwiesen, sich schließlich aber intraindividuell relativ konstante Korrelationen ergaben, war es vorteilhaft zur statistischen Erfassung der untersuchten Parameter, die jeweiligen Testwerte einer experimentellen Serie zu mitteln und in 100% mit Standardabweichungen anzugeben, die Abweichungen von Testparametern unter pharmakologischem Einfluß wurden in Prozent ausgedrückt. Bei der statistischen Überprüfung einer intraindividuellen Versuchsserie, bei der Absolutwerte eingesetzt wurden, ergaben sich gleiche Zählwerte und dementsprechend gleiche Signifikanzen. Die Daten wurden statistisch

mit dem Student-t-Test erfaßt. Nicht systematisch erfaßte Beobachtungen werden gesondert angegeben.

3.

Ergebnisse

3.1 Zur Beobachtung der pharmakologischen Effekte auf die Kaliumaktivitäten im visuellen Kortex wurden verschiedene Parameter des dynamischen Verhaltens der Kaliumaktivität verfolgt. Voraussetzung dafür war, daß die Grundaktivität stabil blieb, also 1. keine Polarisierungseffekte und Drifts in der Meßkette vorlagen, 2. keine Verletzungen gesetzt wurden und 3. keine Störungen der O_2 -Versorgung oder sonstiger Vitalfunktionen des Versuchstieres auftraten.

3.1.1 Die Spontanschwankungen der Grundaktivität von 3 mMol bewegten sich im Bereich von $\pm 0,2$ mMol, darüber liegende Spontanschwankungen erwiesen sich überwiegend (etwa durch Austausch der Elektrode) als Elektrodenartefakte. Grundsätzlich erscheint die Grundaktivität im visuellen Kortex gegenüber anderen Rindengebieten unruhiger. Pulsationen (meist atemsynchron) waren nicht immer zu vermeiden. Da sie die Beurteilung der Aktivitätsmodifikationen erschweren, kann man versuchen, durch Eröffnung der cisterna cerebello-medullaris oder durch Anlegen eines Pneumothorax Abhilfe zu schaffen. Zuweilen gelang es auch, durch Ver- oder Neusetzen der Elektrode die Störungen zu reduzieren. Durch die erwähnte Abdeckung des Kortex durch Agar und Wachs konnten in den meisten Fällen die Registrierungen ausreichend stabil gehalten werden.

Nach längerer Registrierdauer, im Bereich von Stunden, kann es zu einer Erhöhung des Basisniveaus bis auf 4 mMol kommen. Die Kaliumaktivität bleibt innerhalb dieses Bereiches stabil und zeigt erst einige Sekunden nach dem Tod des Versuchstieres einen kontinuierlichen, nicht zu beeinflussenden, massiven Anstieg.

3.1.2

3.1.2.1 Neben der Basal- $a_{K_O}^+$ wurden die unter tetanischer Reizung (3×10^{-4} bis 5×10^{-3} A, 0,05 bis 0,1 msec RW, 20 bis 30/sec) üblichen (226, 227, 256, 260, 284, 313, 395, 397) Kaliumaktivitätserhöhungen im Extrazellulärraum beobachtet. Man registriert die intensivsten Aktivitätszunahmen in kortikalen Tiefen zwischen 500 und 800 μ , was der 4. und 5. Schicht der Rindenneurone entspricht. Es wurden dabei verschiedene Anstiegskinetiken beobachtet, wie sie sehr ähnlich für den sensomotorischen Kortex beschrieben worden sind. Die unter tetanischer Reizung erzielten Kaliumanstiege überschritten gewöhnlich nicht 6 bis 7 mMol. Aktivitätserhöhungen über diesen Konzentrationsbereich waren nur bei krampfartigen Nachentladungen und Krämpfen zu beobachten. Gewöhnlich hatte die Anstiegskinetik exponentiellen Charakter und stellte sich auf ein unter den jeweiligen experimentellen Bedingungen relativ stabiles Niveau ein. In einigen Fällen wurde bei Fortsetzung des Reizes nach

einigen Sekunden ein nochmaliger Aktivitätsanstieg und eine Einstellung auf ein zweites Niveau beobachtet (sigmaförmiger Verlauf), krampfartige Nachentladungen von diesem zweiten Niveau aus waren häufig. Entsprechend konnte bei "unterschwelligem" Reizstörken ein Anstieg aus der Basisaktivität mit einer Verzögerung im Bereich von Sekunden gesehen werden. Auch der exponentielle Anstiegsbereich hatte eine so vielfaktorielle Variabilität, daß die Ermittlung von Zeitkonstanten nicht durchgeführt wurde. Gelegentlich entwickelte sich aus den geschilderten Anstiegs-kinetiken eine krampfartige Nachentladung, deren Dauer meist zwischen einigen Sekunden und, in einen Krampf übergehend, einigen Minuten lagen. Die krampfartige Nachentladung konnte sich aus jedem Stadium des Kaliumaktivitätsverhaltens entwickeln, sowohl aus Kaliumerhöhungen als auch aus Basisaktivitätsbereichen als auch aus primären und posttetanischen sekundären Unterschreitungen der Ruheaktivität. Pharmakologische Einflüsse wurden während dieser Nachentladungen und Krämpfe mitbeobachtet, aber nicht systematisch ausgewertet, da sich in einigen Fällen zeigte, daß sich der pharmakologische Einfluß der untersuchten Substanzen unter Krampfbedingungen etwas anders verhielt als unter den Bedingungen kontrollierter elektrischer Kaliumaktivitätserhöhungen.

Die beobachteten Aktivitätsverläufe waren bei

Oberflächenreizung des Kortex und bei Reizung im CGL im Prinzip vergleichbar, wenn man davon absieht, daß bei CGL-Reizung gewöhnlich etwas höhere Reizströme gegeben werden. Bei dem beschriebenen Aktivitätsverlauf wurden im allgemeinen nur die regelmäßig ansteigenden Kinetiken exponentiellen Charakters ausgewertet. Sigmaförmige Kinetiken wurden nur dann mit-erfaßt, wenn sie sich regelmäßig wiederholten, was in einigen Fällen zutraf.

3.1.2.2 Nach Beendigung der tetanischen Reizung kam es, in Abhängigkeit von den Zeitverläufen der Gleichgewichtseinstellung und der Elektrodenschnelligkeit, zu einer unmittelbaren Abnahme der Kaliumaktivität, mit ebenfalls exponentiellem Charakter, gegen die Ruheaktivität. Meist wurde, wie inzwischen mehrfach beschrieben, die Aktivität posttetanisch für einige Sekunden, nach Krämpfen bis zu Minuten subnormal vermindert (posttetanisches "Unterschwingen" (undershoot), 158, 227). Die dabei verzeichneten Konzentrationsveränderungen betrugen nach korrigierten Eichkurven meist nicht mehr als $-0,4 \text{ mMol}$, bei Krämpfen wurden weitergehende Aktivitätsabfälle beobachtet.

3.1.2.3 In vielen Fällen waren nach dem Undershoot "positive" Nachschwankungen, ebenfalls im Bereich einiger Sekunden, meist etwas kürzer als der Unterschwing, zu sehen. Die zweite Aktivitätszunahme bewegte sich dabei im Bereich weniger Zehntel mMol

und war im Gegensatz zu den anderen erwähnten kinetischen Verläufen der relativ unbeständigste Parameter. Wegen der großen Streuung war eine statistische Beurteilung von vornherein fragwürdig, dennoch wurde eine überprüfende Mittelwertbildung durchgeführt. Besonders intensiv untersucht wurde eine Variante der Aktivitätsverläufe, die von Lux u. Mitarb. gefunden worden war: die primäre Reduktion der Kaliumaktivität bei subtetanischen, 20/sec Reizen im Corpus geniculatum laterale, wobei vorwiegend geniculofugale Neurone mit Eingang in den visuellen Kortex erfaßt werden dürften. Mit Ausnahme antidromer Erfassung kortikaler Rekurrenzen sollte die Reizung also hinsichtlich der kortikalen Felder eine präsynaptische sein. Reizfrequenzen von 3 bis 12/sec waren wirksam. Die notwendigen Reizströme (2×10^{-4} bis 10^{-3} A) waren vergleichsweise schwach. Die Erfahrung zeigte, daß die primäre Kaliumreduktion besonders regelmäßig und intensiv bei eher langsamen Frequenzen (4 bis 6/sec) auszulösen war. Bei $F = 3/\text{sec}$ konnte, wenn die Reizweite bis auf 1 msec verbreitert und der Reizstrom relativ hoch gewählt wurden, ebenfalls eine primäre a_{K^+} Abnahme erzielt werden. Der primären a_{K^+} Reduktion im Kortex konnte im Verlauf einiger 100 msec eine kurze Aktivitätszunahme von wenigen Zehntel mMol vorausgehen. In einigen Fällen verblieb die Kaliumaktivität vor ihrer Abnahme für einige Sekunden

(bis zu 30 sec) im Basisbereich. Die erreichte maximale Aktivitätsabnahme korrelierte in den ausgewerteten Untersuchungen nicht mit der Abfallskinetik, d.h. der Steilheit des Kaliumabfalls. Auf die statistische Erfassung einer möglichen Korrelation wurde verzichtet. Nach Reizende kam es meist zu einem unmittelbaren Wiederanstieg des Kaliumsignals. Der Verlauf der Wiederanstiegskinetik zeigt eine große Variabilität im Gegensatz zur Abfallkinetik nach Kaliumanstiegen. In vielen Fällen zeigte sich postdepressorisch, ähnlich wie nach dem PT-Unterschwing, eine geringgradige kurzfristige reboundartige Kaliumzunahme. Die Wiedereinstellung nach Kaliumaktivitätsveränderungen unter tetanischer Reizung erwies sich also häufig als ein oszillatorischer Vorgang mit außerordentlich langen Zeitgängen.

Zur begrifflichen Festlegung und vereinfachenden Abkürzung wird versucht, für diese Arbeit gelegentlich Abkürzungen zu gebrauchen: PTU_K^+ (PTU-P) für post-tetanischen Unterschwing ("undershoot"), TA_K^+ (TA-P) tetanischer Anstieg von $a_{K_O}^+$, STD_K^+ (STD-P) subtetanische Diminution von $a_{K_O}^+$. Obwohl es den Anschein hat, daß bei diesem Phänomen die subkortikale Reizung im vorgeschalteten Neuron entscheidend ist, bei Kortex-Oberflächenreizung wird keine primäre Kaliumdepression gesehen, kann die Spezifität des präsynaptischen Charakters dieser Reizung noch nicht ausreichend belegt

werden, so daß auf diesen Begriff hierbei kein Gewicht gelegt wird. Antidrome Peizung des Tractus pyramidalis erzeugte gelegentliche STD-P im sensorischen Kortex.

Weiterhin werden in einigen Experimenten Kaliumerhöhungen nach interictalen (epileptiformen) Spikes und bei Einzelreizpulsen ($\rightarrow 5 \times 10^{-3}$ A, $\rightarrow 1 - 2$ msec RW) gesehen. Besonders schnelle K^{+} -Antworten erfordern optimale Abgleichung der Differenzverstärkerkette, sie verschwanden in Zeiträumen, in denen eine Vergrößerung des Spitzentottraumes zu erwarten war und tauchten nach Versetzen der Elektrode wieder auf. Wegen der dennoch möglichen Überlagerung von RC-Artefakten wurde auf eine Auswertung verzichtet.

3.1.4 Eine weitere pharmakologische Einflußnahme auf Kaliumaktivitätsverläufe wurde unter Bedingungen getestet, bei denen die Veränderung der Kaliumkonzentration im Extrazellulärraum nicht durch tetanische Reizung, sondern durch Kaliumiontophorese erzielt wurde. Diese Technik wurde von Lux u. Neher im Detail beschrieben. Die erzielten Konzentrationsveränderungen lagen überwiegend bei $1,2 \pm 0,8$ mMol (abhängig von Iontophoresestrom und Elektroden Eigenschaften). Da hierbei meist ungebrochene Elektroden zur Vermeidung von Diffusionsartefakten verwendet wurden, blieben die erreichten absoluten Konzentrationserhöhun-

gen auch für relativ hohe Stromstärken (zwischen 500 und 800 nA) begrenzt und hielten sich in den meisten Fällen unter 1 mMol. Auch nach Iontophoresepulsen war mehrfach ein kleiner postphoretischer Unterschwing zu beobachten, wenngleich dies für Kaliumpulse eher nicht die Regel ist, und der Unterschwing kürzer als der posttetanische bleibt, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Abfallkinetik des Kaliumpulses gegenüber dem poststimulatorischen Kaliumabfall verzögert erscheint. In diesem Zusammenhang sei die wiederholt gemachte Beobachtung erwähnt, daß tetanische Aktivitätserhöhungen bis zu +0,2 mMol eine auffällige und langdauernde Abfallkinetik zeigen, ohne posttetanischen Unterschwing, wobei sich die Kinetik nach geringgradiger Intensivierung der Reizparameter und entsprechender höherer Plateaeinstellung des Kaliumsignals dem üblichen Verlauf wieder anglich.

3.2 Regelmäßig erfolgte die Mitregistrierung des Feldpotentials (FP) sowie des Oberflächenelektrocorticogramms (ECoG). Der DC-Verlauf beider Potentiale war im Bereich der von uns gewählten intrakortikalen Schichttiefe gleichgerichtet negativ bei Kaliumanstiegen und entsprechend positiv bei Kaliumverminderung. In den Abbildungen wurde aus grafischen und

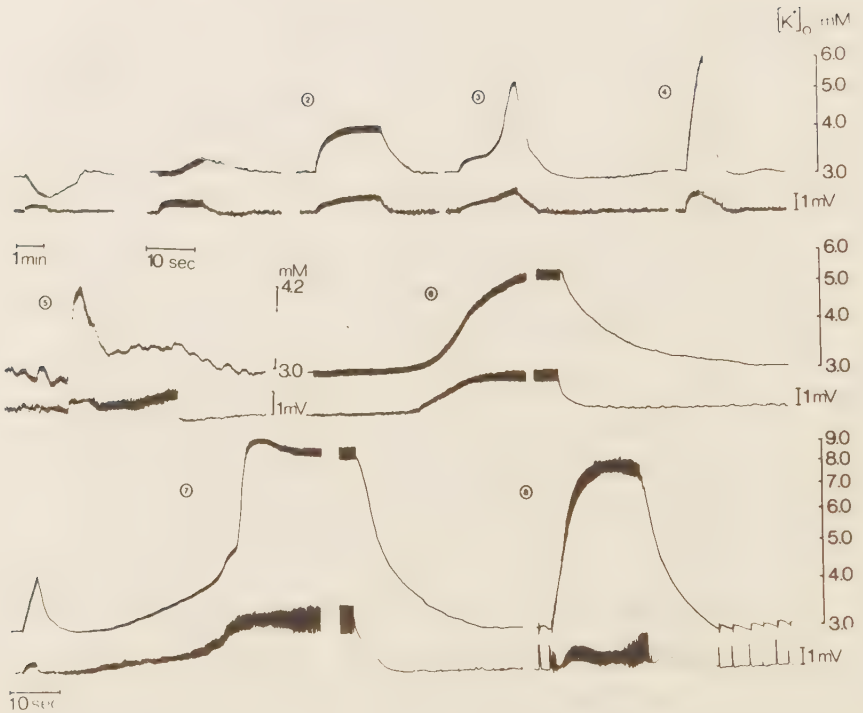


Abb. 4

Kinetiken der a_{K^+} (extrazell. Kaliumaktivität) bei Elektrostimulation. Area 17/18 Schichttiefen 500 - 1000 u. 1) Primärer Unterschwing (STD $_K$ +) Reizort Corp. gen. lat. (CGL-S), 10^{-5} A, 0,1 msec, 6/sec. 2) Tetanischer a_{K^+} Anstieg (TA $_K$ +) Links: langsamer Anstieg aus Ruheaktivität. CGL-S, 10^{-4} A, 0,05 msec, 20/sec. Rechts: Sofortanstieg, Einstellung auf Plateau. Kortexoberflächenreiz (CS), 2×10^{-4} A, 0,05 msec, 20/sec. 3) Erneuter Anstieg nach Plateau-einstellung (Sigmakinetik). CGL-S, 8×10^{-4} A, 0,1 msec, 20/sec. 4) Rascher Kaliumanstieg, nachfolgender Unterschwing (PTU $_K$ +) CGL-S, 8×10^{-4} A, 0,1 msec, 20/sec. 5) Kurze Krampfantladung in SDT $_K$ +. CGL-S, 5×10^{-3} A, 1 msec, 3/sec. 6) Nachentladungen (siehe 2) links) CGL-S, 10^{-4} A, 0,1 msec, 20/sec. 7) Krampfart. Nachentladungen aus PTU $_K$ mit tonischer Vorphase. CS, 3×10^{-3} A, 0,05 msec, 20/sec. 8) Krampfart. Entladungen aus TA $_K$ mit posttetanischen interiktalen Spikes. CS, $3,5 \times 10^{-3}$ A, 0,05 msec, 20/sec.

räumlichen Gründen eine umgepolte, also scheinbar "positive" Darstellung der DC-shifts gewählt. Dabei zeigte sich, entsprechend den Beobachtungen vieler früherer Autoren, eine häufig recht gleichförmige Abbildung des Kaliumpotentialverlaufs im DC Feldpotential und mit etwas größeren Abweichungen auch im ECoG. Bei den Untersuchungen zum STD-P wurde auch das Oberflächen-Feldpotential (evoziertes Potential) miterfaßt.

Weiterhin wurden stichprobenartig zelluläre Spontanaktivitäten über die Referenz- oder eine gesonderte Elektrode aufgezeichnet (siehe auch Heinemann u. Lux, 1958), in der vorliegenden Untersuchung aber ebenfalls nicht systematisch verwertet.

3.3.

3.3.1 In 4 von 6 Experimenten zeigte Noradrenalin als einzige der untersuchten Substanzen einen Effekt auf die Ruheaktivität des Kaliums. Es kam reversibel sowohl unter Verwendung der direkten Iontophorestechnik als auch der indirekten Haltestromtechnik mit Spontanfreisetzung nach Stromöffnung bei ausreichend großen Spitzendurchmessern zu einer Verminderung der extrazellulären Kaliumaktivität um bis zu $-0,4$ mMol. Dieser Effekt war auch bei mehrfachen Wiederholungen zu beobachten.

3.3.2 In den Fällen, in denen die Ruheaktivität unter Noradrenalin keinen Einfluß zeigte, war die Reduktion der erreichten Kaliumaktivität gegenüber Vergleichspulsen bei gleichem Kalium-Iontophoresestrom deutlicher als durch andere Pharmaka ersichtlich. In diesen Versuchen zeigte sich außerdem eine synergistische Wirkung mit DB-c-AMP hinsichtlich des STD-P. Da es sich aber dabei um Einzelbeobachtungen handelt, wurde der letztere Befund statistisch nicht ausgewertet. Eine Reduktion der Kaliumantwort bei gleichen Stromstärken unter NE war auch bei Reduktion der Basisaktivität zu beobachten. In der planimetrischen Auswertung des Aktivitätsverlaufs über der Kalium-Iontophoresezeit (von 23%) ergab sich unter NE eine Verminderung um 22% auf $78\% \pm 23$ SD gegenüber Testmittel von $100\% \pm 11$ SD. Die Standardabweichungen aller pharmakologischen Effekte waren meist etwas höher als die der Testwerte. Trotz der relativ hohen Standardabweichung war dieser Befund auf dem 2,5% Niveau signifikant. Bei Auswertung der Kaliumaktivitätsveränderung während und nach Iontophorese, also über den gesamten Verlauf, ergab sich eine NE induzierte Reduktion des Kaliumsignals um 45% auf $55\% \pm 25$ SD gegenüber Testmittel $100\% \pm 29$ SD. Dieses Ergebnis war auf dem 0,5 % Niveau signifikant. Aus Vergleichsgründen wird hier eine weitere Untersuchung danebengestellt. Es ergab sich nämlich, daß auch im

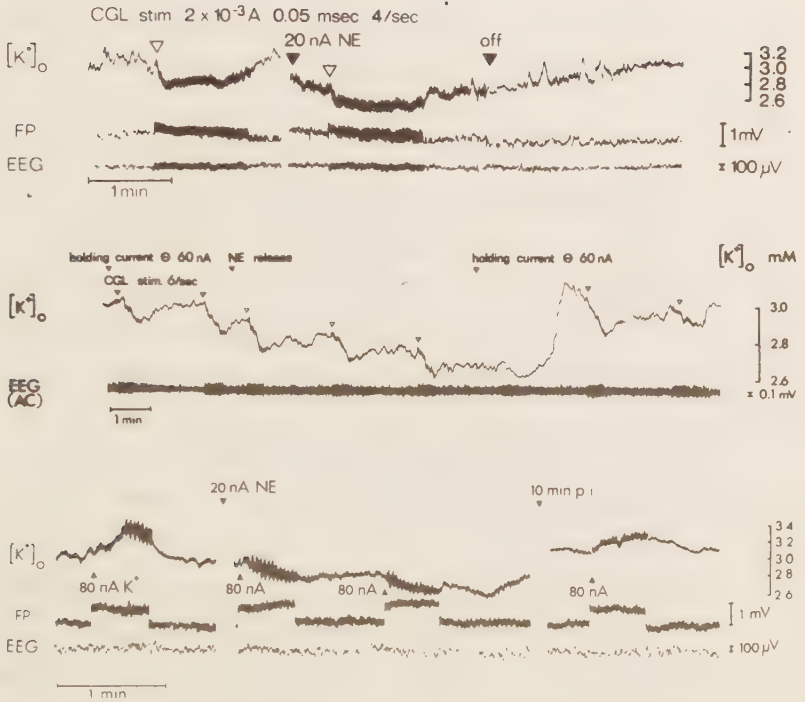


Abb. 5

Einfluß von Noradrenalin auf a_{K^+} Ruheaktivität und primären STD_{K^+} Unterschwing. 1) A_{17} , 800 u. Ruheaktivität periontophoretisch leicht erniedrigt. STD_{K^+} unbeeinflusst. 2) (pH5, NE +) negativer Haltestrom. Spontanfreisetzung von NE nach Stromöffnung bei Pipettenspitzen über 5 u ϕ . $A_{17/18}$ 600 u. Leicht erniedrigte Ruheaktivität, STD_{K^+} unbeeinflusst. CGL-S, 10^{-3} A, 0,05 msec, 6/sec. 3) $A_{17/18}$ 1000 u. Sinkende Ruheaktivität während Noradrenalin-Mikroiontophorese. Der unter Ruhebedingungen sich tabare zusätzlich gegebene Kaliumstrom bleibt während Noradrenalingabe ohne Einfluß auf die absinkende a_{K^+} .

primären, CGL-induzierten, STD-P die K^+ -Pulse verkleinert beantwortet wurden. Der Aktivitätsverlauf über die Iontophoresezeit $[AU_i]$ zeigte eine Reduktion von 21% auf $79\% \pm 26$ SD. Die Aktivitätsveränderung über den gesamten Zeitverlauf $[AU_t]$ zeigte eine Reduktion von 52% auf $48\% \pm 25$ SD. Beide Ergebnisse waren auf dem 0,5%-Niveau signifikant. Die verwendeten Iontophorese-pulse erzeugten im Test eine Aktivitätszunahme zwischen 0,2 und 0,6 mMol. Aus den Befunden wird deutlich, daß die Abfallkinetik noch deutlicher als die Plateaeinstellung beeinflußt wird, wenngleich dieser Befund durch die Länge der Pulsdauer etwas variierbar ist.

3.3.3 Noradrenalin hatte bei seiner reduzierenden Wirkung auf die Basisaktivität keine zusätzlich potenzierende Wirkung auf die CGL reizinduzierten Kaliumabnahmen (STD-P). In den Fällen, in denen die Basisaktivität unbeeinflußt blieb, zeigte sich in Einzelbeobachtungen nur ein geringgradiger Effekt, der aber durch zusätzliche Gabe von DB-c-AMP erheblich potenziert erschien.

3.4

3.4.1 Das Verhalten der Kaliumaktivität unter den Bedingungen des iontophoretisch applizierten DB-c-AMP bei Strömen zwischen 20 und 100 nA blieb hinsichtlich der Basisaktivität unbeeinflußt. In 12 Experimenten

wurde deshalb der Einfluß auf die perstimulatorische Anstiegskinetik (TA-P) die dazugehörige Rücklaufkinetik, in 10 Experimenten der Einfluß auf die STD-P, die primären geniculär induzierten Kaliumaktivitätsabnahmen und in 6 Experimenten der Einfluß auf das Kaliumsignal bei konstanten Kaliumpulsen überprüft. Tetanische Aktivitätszunahme zeigte sich unter DB-c-AMP reduziert. Die Reduktionsraten in Abhängigkeit von der Iontophoresedauer wurden ermittelt. Es erwies sich, daß der reduzierende Effekt nach 20 bis 30 sec ein Maximum erreicht hatte und sich dann für den ausgewerteten Zeitraum von ca. 3 Minuten unter einen Mittelwert etwas unterhalb des Maximums einstellte. Aus dem postiontophoretischen Zeitplot ergab sich, daß die Effekte rasch reversibel sind, in einem Zeitraum von 10 bis 15 sec, was ausgezeichnet mit den angegebenen Zeiten für den Phosphodiesterasenabbau von pharmakologisch appliziertem DB-c-AMP im Gehirn übereinstimmt. Eine Tendenz zu postiontophoretisch etwas überschießenden Kaliumantworten, möglicherweise also ein postinhibitorischer rebound, war ebenso wie ein nachfolgendes gegenläufiges oszillierendes Verhalten festzustellen. Diese Effekte erscheinen aber statistisch nicht signifikant und wurden in der vorliegenden Untersuchung nicht weiter verfolgt.

3.4.1.1 Das tetanische Kaliumsignal TA-P war unter DB-c-AMP im Mittel auf $87\% \pm 25$ SD gegenüber Testmittel $100\% \pm 23$ SD um 13% reduziert. Bei 128 Stichproben war dieser Effekt auf dem 2,5% Niveau signifikant. Bei planimetrischer Erfassung $\left[AU_s \right]$ fand sich perstimulatorisch eine Reduktion um 11% auf $89\% \pm 19$ SD gegenüber $100\% \pm 15$ SD Testmittel. Bei planimetrischer Erfassung des gesamten $a_{K_o}^+$ Verlaufs, also bis auf Wiedereinstellung auf Ruheaktivität $\left[AU_t \right]$ erfolgte unter DB-c-AMP eine Reduktion um 17% auf $83\% \pm 22$ SD gegenüber $100\% \pm 21$ SD.

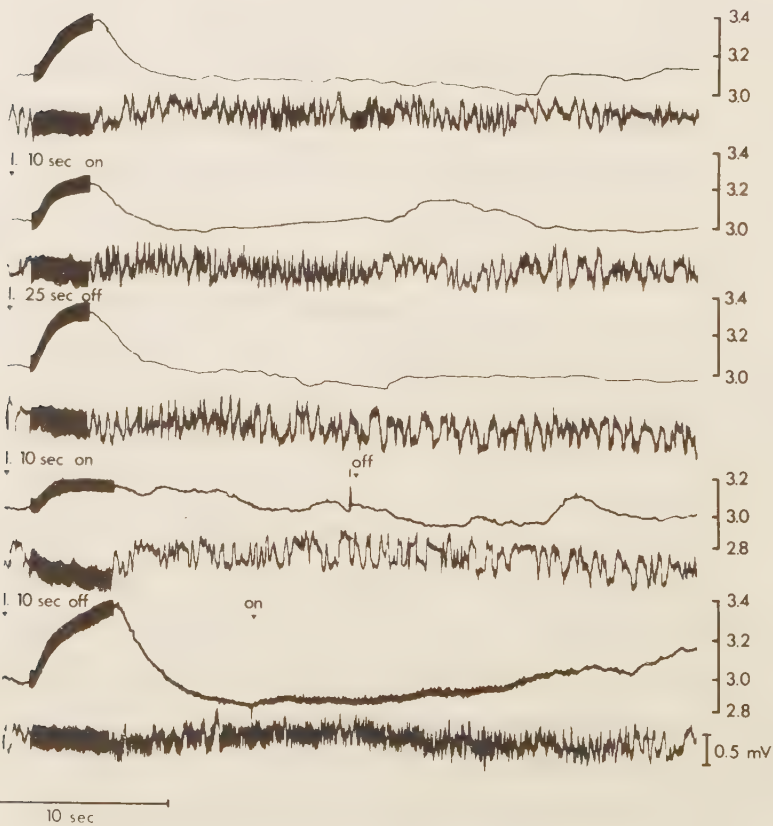
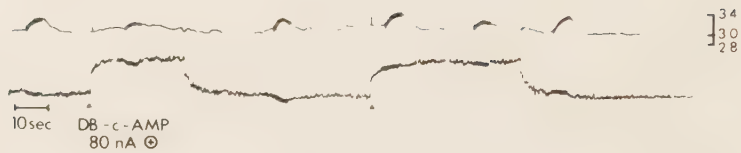
3.4.1.2 Die Halbwertszeit des poststimulatorischen $a_{K_o}^+$ Abfalls (PTU-P) verkürzte sich unter DB-c-AMP auf $86\% \pm 28$ SD von $100\% \pm 20$ SD Testmittel, was einer effektiven Verkürzung um 14% entspricht. Die planimetrischen Daten waren auf dem 0,5% Niveau, die Halbwertszeiten auf dem 2,5% Niveau signifikant. In der Verkürzung der Halbwertszeit verdeutlicht sich, was schon in dem Effekt $AU_t \leftarrow AU_s$ zum Ausdruck kommt: ein deutlicherer Effekt von DB-c-AMP auf die Pückführung auf Ruheniveau gegenüber dem Einfluß auf TA-P Anstieg und Niveau. Dem entsprach auch, daß die Anstiegshalbwertszeiten sich unter DB-c-AMP nicht signifikant veränderten. Auch die weiterhin erfaßten Daten wie der posttetanische Unterschwing und die nicht regelmäßig auftretende aktivitätserhöhende zweite Nachschwankung zeigten keine signifikante Beeinflussung

durch cyclisches AMP, weder in hemmender noch in potenzierender Richtung. Dabei erschien vor allem wegen der hohen Streuung der Befunde, die statistische Erfassung nicht sinnvoll. Bei der Mittelwertberechnung lagen c-AMP und Testwerte nahe beieinander.

Bei diesen Befunden wurden noch keine laminaren Analysen vorgenommen; die Registrierung erfolgte auch hier zwischen 500 und 900 μ Schichttiefe. Obwohl tendenziell keine schichtenspezifischen Wirkprofile auffielen, bedürfte eine klare Aussage einer gesonderten Überprüfung.

Mit besonderer Aufmerksamkeit ist, wie schon angedeutet, die primäre Depression der $a_{K_O}^+$ bei subtetanischer Reizung in CGL (STD-P) verfolgt worden, vor allem nachdem es sich herausgestellt hatte, daß hier, anders als am PTU-P, cyclisches AMP potenzierenden Einfluß hatte. Es zeigte sich, daß die Abnahme der K^+ -Aktivität gegenüber dem Ruheniveau, $[-\Delta a_{K_O}^+]$ in 100% $\pm$ 19 SD, auf 122% $\pm$ 30 SD, also effektiv um 22% gesteigert war. Die Daten für diesen Effekt in Flächeneinheiten waren perstimulatorisch $[AU_s]$ gegenüber Testmittel 100% $\pm$ 26 SD: 119% $\pm$ 34 SD (= 19% Steigerung). Bei planimetrischer Erfassung des gesamten STD-P bis zur Einstellung auf Ruheniveau $[AU_t]$ fand sich eine pharmakologische Intensivierung um 28%, von 100% Mittel $\pm$ 28 SD auf 128% $\pm$ 45 SD. Auch bei dieser,

Cortex Stim. 1×10^{-3} A 0.05 msec 20/sec



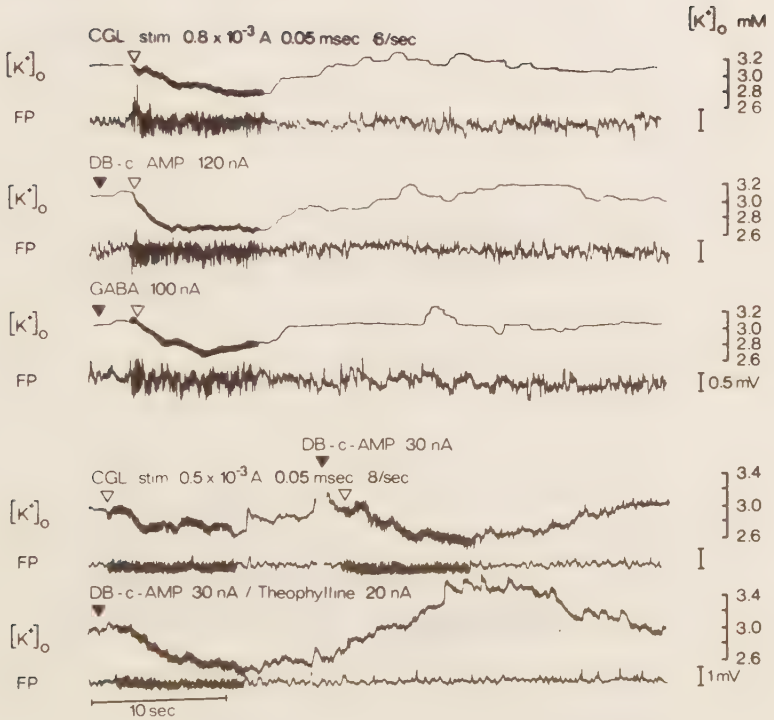


Abb. 6

Einfluß von DB-c-AMP auf tetanischen a_{K+} Anstieg (TA_{K+}) und primären Unterschwing (STD_{K+}). nA: mikroiontophoretischer Stromfluß in nano Ampère. K^+_o : a_{K+}_o . FP: Feldpotential. 1) A18, 800 u. Latenz des TA_{K+} reduzierenden DB-c-AMP-Effektes aus Verlaufsaufzeichnung erkennbar. 2) Reduktion von TA_{K+} unter DB-c-AMP. PTU_{K+} unspezifisch moduliert. Positive Nachschwankung nicht konsistent. 3) A18 1000 u. Zunahme des STD_{K+} unter DB-c-AMP. Geringer gleichartiger Effekt unter GABA. 4) A18, 800 u. Potenzierung der DB-c-AMP bedingten Zunahme von STD_{K+} bei gleichzeitiger Theophyllin-Iontophorese. Deutliche positive Nachschwankung.

um es noch einmal anders auszudrücken, pharmakologisch um 28% gesteigerten "Desaktivierung" von Kalium im kortikalen Interstitium unter vorwiegend präsynaptischen subtetanischen Reizbedingungen war unter Miterfassung des poststimulatorischen Bereichs eine deutlich zunehmende Tendenz der pharmakologischen Beeinflussung erkennbar. Bei diesen Effekten war in zeitlicher Abhängigkeit vom Schluß und Öffnung des Iontophoresestromes, ähnlich wie für die zuvor beschriebenen Einwirkungen auf den TA-P, Einstellzeiten von 10 - 20 sec zu verzeichnen. Offenbar muß die im elektrischen Feld wandernde Substanz erst ein ausreichend großes Areal besetzen, um an der sensitiven Elektrode Einflüsse auf K^+ -Kinetiken erkennen zu lassen. Auch der STD-P reagierte etwas überschießend nach ca. 30 sec, vor einer anschließenden relativ konstanten Einstellung der prozentualen Effekte. Auch hier stimmt die Wiedereinstellungszeit von 15 sec erstaunlich genau mit den experimentellen pharmakologischen Daten der intrakortikalen DB-c-AMP Inaktivierung überein. Auch der STD-P zeigt einen angedeuteten gegenläufigen rebound im zeitlichen Bereich von 60 ± 20 sec postiontophoretisch. Hinsichtlich der zutagetretenden Einstelldauer der pharmakologischen Wirkungen sei festgestellt, daß in den Versuchen ausschließlich gegen Masse iontophoretisiert wurde. Bei Gebrauch der Inter-barrel-Technik, bei

means and standard deviations during and after iontophoresis

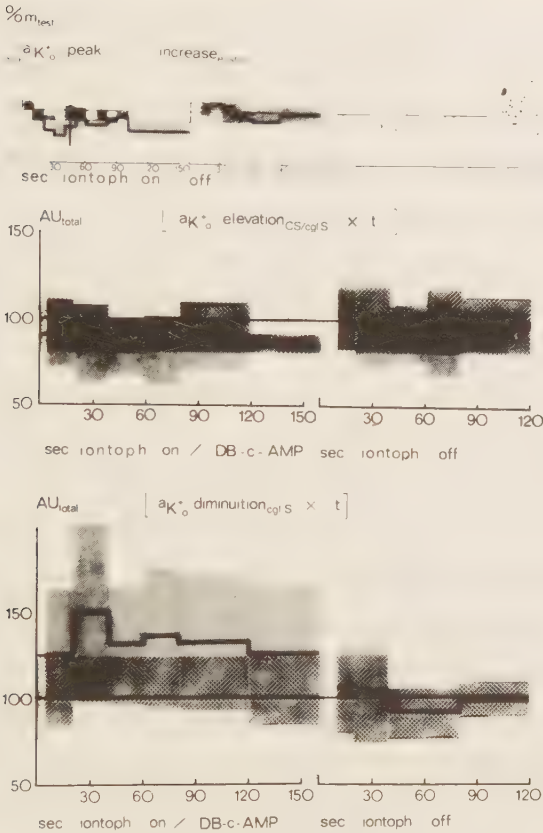


Abb. 7

aK_o Anstieg (TA_{K+}) und Unterschwing (STD_{K+}) in Abhängigkeit von der Zeit nach DB-c-AMP-Phorese Stromschluß und -öffnung. Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen. $\%m_{test}$: Datenerfassung in Prozent vom Mittelwert der Testwerte einer Versuchsserie. aK_o peak: Maximal erreichte Aktivitätszunahme bei tetanischer Reizung. AU_{total} : Planimetrische Erfassung von TA_{K+} in Flächeneinheiten (area units). 1) Rechts: Darstellung der Einzelwerte (Zufallsverteilung). Links: Mittelwert und Standardabweichung/10 sec im Zeitplot. Latenz des DB-c-AMP-Effektes auf TA_{K+} : 10 sec (siehe Abb. 6). 2) Verlauf bei planimetrischer Erfassung erscheint weniger "schwankend". Möglicher Reboundeffekt nach Strömöffnung aber auch hier erkennbar. (Standardabweichungen: DB-c-AMP dunkel, Test hell punktiert). 3) STD_{K+} Zunahme (planimetrisch erfaßt) zeigt einen vergleichbaren Zeitgang nach DB-c-AMP-Phoresestromschluß und -öffnung.

der die Substanzverbreitung im Gewebe in erster Linie per diffusionem erfolgt, mit den entsprechenden exponentiell abfallenden Konzentrationen um die Elektrodenspitze, waren die beschriebenen pharmakologischen Befunde nicht zu erheben. Dies könnte als Hinweis darauf gewertet werden, daß doch ein über die unmittelbar benachbarten Wandareale hinausgehender Volumenanteil des Compartments an dem Zustandekommen der Vorgänge beteiligt ist. Es erscheint von daher wahrscheinlich nicht möglich, aus dem Anstiegsverlauf der Wirk-Zeitbeziehung Rückschlüsse auf Diffusions- bzw. Flußkonstanten der untersuchten Substanzen unter den gegebenen Bedingungen zu ziehen.

Die Abfalls-Halbwertszeiten waren tendenziell beschleunigt (!), Halbwertszeiten und Gesamtzeiten der Wiedereinstellung auf Ruheniveau tendenziell verzögert. Für beide Phänomene ergab sich bei der außerordentlich hohen Streuung, trotz der hohen Zahl der Stichproben, keine Signifikanz. Auch bei dem in vielen Fällen vermerkten reboundartigen kurzfristigen Aktivitätsanstieg, einem "Post-STD-P-overswing", wenn man so will, fanden sich wegen der hohen Streuung keine signifikanten Effekte. Allerdings ergab sich beim Vergleich der Mittelwerte für diesen Parameter eine doch recht deutliche Reduktion unter DB-c-AMP bei Auswertung in Flächeneinheiten. Es bleibt also abschließend festzustellen, daß nur die eingangs

beschriebenen Wirkungen auf den STD-P auf dem 0,5% Niveau hochsignifikant waren.

Für den STD-P war zu überlegen, ob hier durch Hemmung auf subkortikaler Ebene ein gegenüber Spontanbedingungen reduziert eingehender Impulsfluß verantwortlich war, in wieweit möglicherweise die eingehenden Impulsmuster kortikale Inhibition aktivieren, und schließlich: in wieweit Kaliumtransport aktiviert wurde, was ja sowohl mit unspezifischer, etwa glialer als auch mit elektrogener (neuronaler) Stimulierung verbunden sein könnte. Grundsätzlich gibt der sehr ähnliche zeitliche Verlauf der Nucleotideinwirkung auf die aszendierende und deszendierende "steady potential" Kinetik der a_{K^+O} Anhaltspunkte für einen möglicherweise ähnlichen Wirkmechanismus oberhalb und unterhalb der Ruheaktivität, wobei eine Vermittlung durch elektrische oder auch nur exzitatorische Einflüsse notwendig zu sein scheint. Es wurde deshalb versucht, durch iontophoretisch beigebrachte Kaliumbelastung des Extrazellulärtraumes weiteren Aufschluß über die Natur der an den Nucleotideffekten beteiligten Vorgänge zu erhalten. Obgleich üblicherweise die Simulierung erregungsbedingter Phänomene durch Kaliumdepolarisation weit höhere Konzentrationen erfordert, erschien es doch denkbar, daß entweder die unter der iontophoretischen a_{K^+O} Erhöhung nur geringgradig zu erwartenden Depolarisationen ausreichten, um die

Nucleotideffekte auszulösen oder aber die Kaliumerhöhung selbst als "Trigger" fungiert. Seit langem ist bekannt, daß K^+ im Kortex ein wirksamer Stimulator der Adenylcyclase ist.

3.4.1.3 Tatsächlich stellte sich heraus, daß c-AMP periontophoretisch einen sehr vergleichbaren Effekt auf die extrazelluläre K^+ -Belastung ausübte, sie auf den perstimulatorischen $a_{K_O}^+$ Verlauf. Es fand sich eine Reduktion auf $90\% \pm 13$ SD von $100\% \pm 11$ SD, also um 10%. Sowohl zu der TA-P, als auch der K^+ -Puls-Beeinflussung ist hinzuzufügen, daß es sich ja um Mittelwerte handelt, in die die Tatsache mit eingeht, daß die Effekte in gemäßigten Bereichen der Aktivitätserhöhung bis zu +2 mMol ausgeprägter waren als in höheren Konzentrationsbereichen. Weiterhin zeigte sich bei flächenmäßiger Erfassung des gesamten Kaliumpulses eine sehr viel deutlichere Depression auf $60\% \pm 25$ SD von $100\% \pm 29$ SD also eine offenbar um 40% gesteigerte Eliminierung aus dem Extrazellulärraum, wobei natürlich die Möglichkeit besteht, daß während des "Kaliumpulses" Zellen stimuliert werden, die die Höhe des Kaliumsignals mitbeeinflussen, die also unter DB-c-AMP gehemmt werden könnten, weshalb es sich wohl nicht unbedingt um eine Transportaktivierung dieses Ausmaßes handeln muß. Wiederum wird deutlich, daß offenbar die pharmakologischen Effekte besonders auf die Wiedereinstellungsvorgänge auf den Ruhezustand hin "gerichtet" sind. Die seltenen kleinen post-

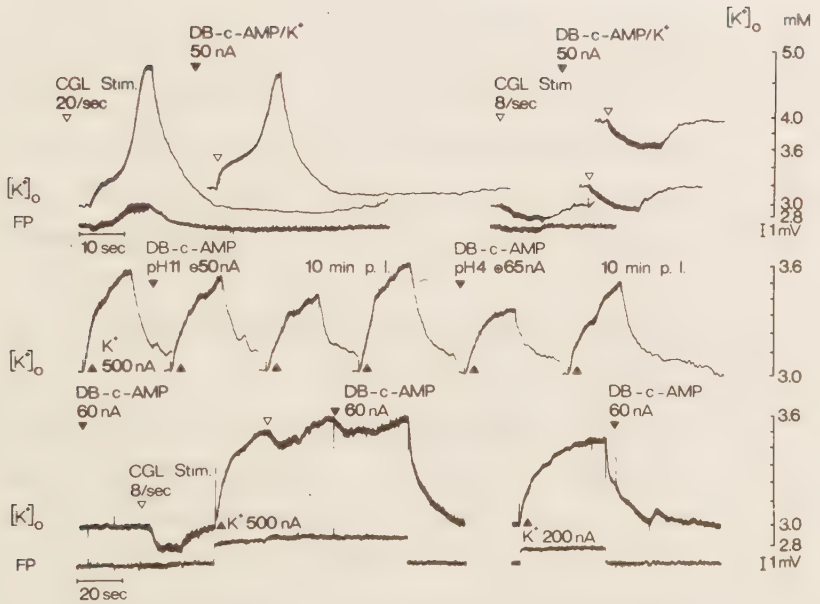


Abb. 8

a_{K^+} Kinetiken bei Kombinationen von K^+ und DB-c-AMP-Iontophorese. Area 17/18, 800-1000 u. nA: Phoresestromstärke. K^+_o : $a_{K^+}_o$. FP: Feldpotential.

- 1) K^+ -potenzierte TA_{K^+} Reduktion unter DB-c-AMP.
- 2) K^+ -potenzierte STD_{K^+} Zunahme unter DB-c-AMP.
- 3) Abnahme der iontophoretisch erhöhten K^+ -Aktivität (K^+ -Pulse) im Bereich der Meßelektrode bei gleichzeitiger Applikation von DB-c-AMP. Dieser Effekt ist nicht pH-, ladungs- oder stromrichtungsabhängig.
- 4) "Unterschwing" durch intermittierende DB-c-AMP-Phorese auf iontophoretisch erhöhtem $a_{K^+}_o$ Niveau.
- 5) DB-c-AMP-Wirkung ist auch noch während des postiontophoretischen $a_{K^+}_o$ Abfalls faßbar. Nur die Grundaktivität bleibt unbeeinflusst.

iontophoretischen Unterschwings wurden nicht mit ausgewertet, zeigten aber keine Tendenz zu pharmakologischer Beeinflussung.

Nachtragend sei noch einmal festgehalten, daß 10^{-5} M DB-c-AMP in Lockelösung keinen Effekt in Superfusionsexperimenten zeigte, was infolge der Phosphodiesterasenaktivität des Gehirns auch nicht zu erwarten war, und daß das über Mikroinjektion beigebrachte Nucleotid gleichfalls depressorische Wirkungen auf die $a_{K_O}^+$ vermittelte, wobei in diesen Versuchen die gelegentliche Volumenbelastung des Compartments sich als störend erwies.

Aus den Vorbefunden ergibt sich eine Interpretationsmöglichkeit, nach der eine Kaliumerhöhung nicht nur die zellulären cyclischen Nucleotide erhöht, sondern auch bestimmte Wirkungen des Dibutyrylderivats in Gang bringt. Dementsprechend fanden sich STD-P-artige Effekte bei kurzen c-AMP-Pulsen bei iontophoretisch erhöhtem K^+ -Niveau; bei gleichzeitiger Iontophorese von K^+ und DB-c-AMP machte sich eine kontinuierliche Steigerung des STD-P-Unterschwings bis zu einer Niveauerhöhung von $+1$ mMol K^+ bemerkbar, über dieses K^+ -Niveau hinaus ließ sich keine weitere Steigerung dieser mutmaßlich synergistischen Aktion von DB-c-AMP und K^+ feststellen. Der depressorische Zusammenlauf beider Agenzien brachte eine Steigerung des STD-P auf $148\% \pm 18$ SD von $100\% \pm 26$ SD.

3.5 Überprüft wurde auch die Rolle des Theophyllins, für dessen Wirkung im Kortex, wie ausgeführt, äußerst widersprüchliche Befunde vorliegen. In Superfusionsversuchen hatte sich Theophyllin in Konzentrationen von 0,1 mMol in Lockelösung mit großer Regelmäßigkeit als eine die perstimulatorischen Kaliumantworten als deutlich intensivierende Substanz erwiesen. Die Krampfschwelle wurde herabgesetzt (413), Anstiegsteilheit und Niveau von K^+ im Krampf erschienen ein-drucksvoll angehoben.

Weitaus schwächer, gleichwohl gut erkennbar, war der gleichgerichtete Einfluß auf stimulatorische Kaliumkinetiken bei i.v. Applikation von Theophyllin-Monohydrat (Euphyllin^R) in subletalen Dosen von 0,1 0,2 g/kg. Dabei ist die Feststellung wichtig, daß die Ruheaktivität niemals beeinflußt wurde.

Neue Gesichtspunkte ergaben sich durch den zunächst widersprüchlichen Befund, daß bei einer reduzierten Theophyllinkonzentration im Superfusat von 0,025 mMol sich 1. Grundlinienschwankungen mit einer Tendenz zur a_{K^+O} Zunahme einstellten und 2. die perstimulatorischen K^+ -Antworten nicht nur relativ, sondern auch absolut von erhöhtem K^+ -Niveau aus reduziert waren, was bei Theophyllinfreiem Superfusat reversibel war.

Es wurde infolgedessen versucht, Theophyllin in relativ niedriger Konzentration iontophoretisch mit

geringer Stromstärke (20 nA) beizubringen. Dabei zeigte sich, daß 1. Basisaktivität ebenfalls unruhiger wurde, 2. die dem STD-P folgende $a_{K_O}^+$ erhöhte Nachschwankung deutlich zunahm, 3. aber wider Erwarten der STD-P eine dem c-AMP entsprechende zunehmend depressorische Beeinflussung erfuhr. Die Abnahme der Kaliumaktivität unter dem subtetanischen CGL-Reiz steigerte sich unter Theophyllin perstimulatorisch auf $131\% \pm 31$ SD von $100\% \pm 26$ SD und für den gesamten STD-P auf $121\% \pm 26$ SD von $100\% \pm 28$ SD. Beide Effekte, die in Flächeneinheiten erfaßt wurden, waren auf dem 0,25%-Niveau signifikant.

3.6 Daraufhin wurden die c-AMP und Theophyllin auf einen möglichen Synergismus hin nachuntersucht. In der Tat ließ sich so eine Steigerung der K^+ -Reduktion des STD-P auf $145\% \pm 30$ SD von $100\% \pm 26$ SD perstimulatorisch und $149\% \pm 39$ SD poststimulatorisch bewirken. Diese Steigerung der extrazellulären K^+ -Elimination unter den CGL-Reizbedingungen war doch recht deutlich und legt die Bedeutung der Phosphodiesterasehemmung bei der Wirkvermittlung des Dibutyryl-c-AMP nahe. Aber auch hier ist an eine Steigerung der Wirksamkeit des Pharmakons bei unspezifischer Steigerung des Erregungsniveaus zu denken.

Es wurde eine Steigerung der Kaliumelimination bei

langsamer geniculärer repetitiver Reizung unter zwei verschiedenen synergistischen pharmakologischen Testungen um maximal fast 50% festgestellt. Es ist denkbar, daß damit die Grenzen der funktionellen Reserven eines unter bestimmten Bedingungen (und möglicherweise Erfordernissen) Kalium-eliminierenden Systems erreicht sind. Ein hoher Anteil von ausschließlich stimuliertem K^+ -Transport, ohne dabei das Ausmaß elektrogener Kopplung an dem Na^+ -Transport einschätzen zu können, wird durch die erhobenen Befunde nahegelegt. Eine Reihe neurophysiologischer Daten anderer Autoren läßt indes eine gleichfalls wesentliche Beteiligung aktivierter inhibitorischer neuronaler Systeme vermuten.

3.7 Der von Lux (260) gesehene Effekt von GABA unter repetitiver Reizung auf den TA-P, das ansteigende K^+ -Signal, wurde reproduziert. Der Einfluß auf die K^+ -Depression, dem STD-P, war gering: perstimulatorisch fand sich eine Steigerung auf $113\% \pm 23$ SD von $100\% \pm 26$ SD. Für den gesamten erniedrigten K^+ -Verlauf fand sich, immer in Flächeneinheiten gemessen, aber nur eine Steigerung von $107\% \pm 23$ SD, für die sich keine Signifikanz ergab. GABA war damit die einzige geprüfte Substanz, die unter Einbeziehung des post-stimulatorischen $a_{K_O}^+$ Verlaufs einen weniger ausgeprägten Effekt (gegenüber dem perstimulatorischen) zeigte.

Es erscheint denkbar aus dieser Tatsache, neben der ohnehin bestehenden neuropharmakologischen Evidenz der inhibitorischen Natur der GABA-Wirkung ein weiteres Argument dafür herzuleiten, daß sich in den GABA-Auswirkungen auf den STD-P der inhibitorische Anteil am Zustandekommen dieses Phänomens manifestiert.

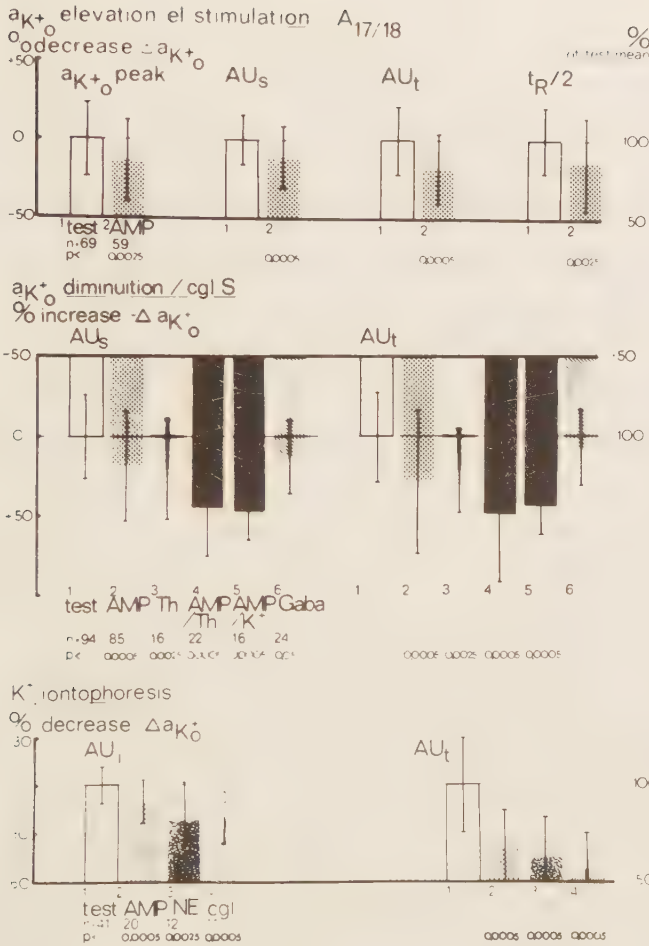


Abb. 9

Pharmakologische Effekte von DB-c-AMP, Theophyllin, Noradrenalin, GABA, DB-c-AMP + Theophyllin, DB-c-AMP + K^+ . Darstellung in % Abweichung vom Testmittelwert (in 100%) mit Standardabweichung, Anzahl der Stichproben (n) und Signifikanzen (p). 1) TA_{K^+} (tetanischer a_{K^+} Anstieg) ohne und mit DB-c-AMP. a_{K^+} peak: Kaliumspitzenwerte. AU_S : Planimetrisch erfasster perstimulatorischer a_{K^+} Anstieg. $AU_t = AU_S +$ poststimulatorischer a_{K^+} Abfall. 2) STD_{K^+} (subtetanische a_{K^+} Diminution) bei CGL (Corp.genicul. lat.). Stimulation. AU_S : STD_{K^+} Flächeneinheiten, perstimulatorisch. AU_t : Flächeneinheiten Gesamtunterschwing. 3) Reduktion der meßbaren K^+ -Pulse als Ausdruck gesteigerter K^+ -Elimination durch DB-c-AMP, Noradrenalin (NE) und während des primären STD_{K^+} Unterschwings (cgl). AU_i : Flächeneinheiten periontophoretisch. AU_t : Flächeneinheiten des Gesamtpulses.

4.

Diskussion

4.1 Kaliumverschiebungen im Extrazellulärraum sind aus vorgenannten Gründen von einleuchtender funktioneller Bedeutung. In der klinischen Therapie ist der K^+ -Gehalt des Serums ein empfindlicher und in geringeren Toleranzbreiten verschieblicher Wert unter den unterschiedlichsten Gesichtspunkten, insbesondere natürlich bei pharmakologischen Eingriffen in die K^+ -Regulation durch Mineralocorticoide, Diuretika und Herzglykoside sowie bei klinischen Zustandsbildern aus dem Bereich der Comata und Delire, die mit Kaliumverarmung der Zellen einhergehen. Störungen der Kaliumregulation zeigen im hypokaliämischen Bereich ja zu-
meist muskuläre, in erster Linie myocardiale Auswirkungen. Das gleiche gilt für Hyperkaliämien. Hinsichtlich der intracerebralen, transmembranalen K^+ -Regulation gibt es wenige funktionelle Hinweise auf Zusammenhänge mit klinisch bekannten cerebralen Dysfunktionen. Einige Arbeiten erörtern bei manisch-depressiven Erkrankungen (103, 289) und nach entsprechender pharmakologischer Eingriffen (45) Veränderungen in der transmembranalen K^+ -Verteilung. Gelegentlich wurde auch auf die Bedeutung der Kaliumregulation im Hippocampus im Zusammenhang mit der Epileptogenese (24, 37, 98, 111, 118, 120, 274, 410), aber auch im Zusammenhang mit Gedächtnisfunktionen (93, 184) hingewiesen.

Nach der Theorie von Izquierdo stehen hippocampale, extrazelluläre Kaliumakkumulationen, RNA-Synthese, homo- und heterosynaptische Faszilitierung und posttetanische Potenzierung mit der Physiologie des Lernens und des Gedächtnisses in Verbindung. Hierbei ist immerhin zu bedenken, daß Kaliumveränderungen nicht nur eine elektrophysiologische Bedeutung haben, sondern zugleich vielfache Rückwirkungen auf Transmitterabgabe und -aufnahme (43, 58, 281). Allerdings wurde gezeigt, daß hohe K^+ -Konzentrationen sich eher hemmend auf die neuronale Proteinsynthese auswirken! (305).

Ein weiterer theoretischer Gesichtspunkt zur Kaliumregulation (343) dürfte sich durch die Symptomatik der Digitalis-Intoxikation ergeben, die sich beim Menschen ja in Form von Sehstörungen und Halluzinationen, allerdings auch Krämpfen neben den üblichen Störungen der Übelkeit und des Erbrechens bemerkbar macht. Therapeutisch sind dabei K^+ -Infusionen sinnvoll, da wohl die intrazelluläre Kaliumverarmung den entscheidenden pathogenetischen Faktor darstellt (Godman u. Gilman, 1975). Andere zentral wirksame Pharmaka vom Barbiturat- und Diphenylhydantoin-(DPH)Typ, die ebenfalls das Regulativ des intracerebralen Kaliums beeinflussen (119, 157, 295), haben neben ihrer akuten und chronischen antiepileptischen Funktion zunächst weniger drastische zentrale Folgen im Überdosierungs-

bereich. DPH, ein möglicher ATPase-Stimulator, zieht bei chronischer Überdosierung neurotoxische Schäden nach sich, von denen die Kleinhirnläsionen besonders bekannt sind. Weitere funktionelle Anhaltspunkte zur K^+ -Regulation ergeben sich durch den Antagonismus des Krampfgiftes Bicuccullin auf die K^+ -elevierte (?) präsynaptische Hemmung (344).

4.1.1 Seit Anwendung der schnellen intrakortikalen K^+ -Messung (37) ergaben sich neue funktionelle Aspekte hinsichtlich des $a_{K_O}^+$ Verlaufs und den regionalen Feldpotentialen sowie besonders den "Gleichstrompotentialschwankungen". Solche langsamen "gehaltenen" Potentialveränderungen wurden wegen der meßtechnischen Erfordernisse von O'Leary u. Goldring (1964) als DC-Potentiale bezeichnet. Als zugeordneter Begriff gilt der "SP-shift", worunter steady, slow oder sustained potential shift verstanden werden kann und eine Veränderung eines DC-Potentials gemeint ist (99). Frühzeitig wurde ein Zusammenhang zwischen solchen DC-shifts und schichtartig gelagerten Neuronen vermutet, die Parallelströme erzeugen sollen und zwischen dendritischen und axonalen (369) Orten Potentialdifferenzen zeigen. Aber auch für eine unmittelbar "gliale" Entstehung fanden sich Anhaltspunkte (71, 129). Schon früher wurden phasische Potentialveränderungen im Kortex, so zum Beispiel bei langsamer repetitiver Thalamus- (56) oder Cerebellumreizung (99) beschrieben. DC-Schwankungen

ergeben sich durch Eingriffe in einfache hirnpfysiologische Parameter etwa wie O_2 -Versorgung (194) oder Hirndurchblutung (41) oder den Schlaf-Wach-Rhythmus (4) und sind typisch im Verlauf tonischer und klonischer Krämpfe (68, 134). Klinisch können Veränderungen der SP-shifts häufig areal-spezifisch in Konditionierungsexperimenten und Untersuchungen psychischer und neurologischer Störungen genutzt werden (153).

Es zeigte sich, daß bei einem SP-shift durch tetanische Reizung der $a_{K_O}^+$ Verlauf unter bestimmten Umständen in recht guter Übereinstimmung mit dem DC-Verlauf der Kortexoberfläche und der oberflächlichen Rindenschichten steht (173). Da sich die DC-Größe und Potentiale hinsichtlich ihrer "Richtung" tiefspezifisch verhalten, was üblicherweise auch für das Ausmaß des K^+ -Signals zutrifft und in den vorliegenden Untersuchungen bestätigt wird, ergeben sich theoretische Möglichkeiten eines Zusammenhanges. Praktisch bedeutet das zunächst einmal: Das negative Gleichstrompotential und der tetanische $a_{K_O}^+$ Anstieg haben von der Kortexoberfläche ausgehend bis zu einer gewissen Schichttiefe eine ungefähr parallel laufende Tendenz. Die glialen und möglicherweise neuronalen K^+ -Depolarisationen werden ja extrazellulär als "Negativität" erfaßt, zusätzlich könnte man in die Interpretation somatodendritische Potentialdifferenzen einführen (113). Während allerdings die maximale K^+ -Reizantwort am visuellen und

motorischen Kortex zwischen 600 und 800 μ erfolgt, zeigt das DC-Potential laminar eine zunächst zunehmende, dann jedoch wieder abnehmende Tendenz bis ca. 1000 μ und eine Potentialumkehr zwischen 1000 und 1400 μ (68).

Katz (192) errechnete bei abnehmender Zahl der erregten Fasern in einem Ruheleiter über den veränderten Quotienten von Außen- und Innenwiderstand einen veränderten Quotienten des extrazellulär erscheinenden Potentialsprunges im Verhältnis zum (entgegengesetzten) intrazellulären. Die extrazellulär erfaßte Negativität sollte also mit Abnahme der erregten Einheiten im Volumen überproportional reduziert sein. Zudem erscheint es möglich, über eine gedankliche Variation von "Verbraucherwiderständen", über die der Strom bei entstehenden schichtspezifischen Potentialdifferenzen ins Gewebe abfließen sollte, modifizierende Faktoren in der Korrelation zwischen SP-shift und $a_{K^+}^o$ Verlauf einzuführen.

4.1.2 Wie ausgeführt, war es möglich unter bestimmten Bedingungen eine reduzierte Antwort des Kaliumsignals an der Meßelektrode, z.B. bei einem in der Nachbarschaft gegebenen stereotypen K^+ -Puls zu verzeichnen. Ein derartiger Befund kann nur so interpretiert werden, daß Kalium aus dem konzentrationserhöhten Areal in erhöhtem Maße eliminiert wird. Rechnerisch müßte sich dieser Befund etwa in einer Ver-

kleinerung der Diffusionskonstanten auswirken. Da die meisten Diffusionsbarrieren im Compartment ohnehin einen dem Kalium entgegengesetzten Konzentrationsgradienten haben, sollte der Befund also in erster Linie im Sinne eines aktivierten Transports interpretierbar sein. Hierbei kann einerseits der Na^+ -Transport mit der K^+ -Kopplung und der Veränderung des elektrischen, den K^+ -Einstrom fördernden Gradienten betroffen sein, andererseits ein "direkter" K^+ -Transport selbst. So bieten sich also gerade die ionensensitiven Elektroden an, Pumpenwirkungen im allgemeinen (und elektrogene Pumpen im besonderen) sichtbar zu machen (158, 227, 230).

Gegen eine Beteiligung eines mikrozirkulatorischen Faktors spricht, daß im Kortex etwa durch Zuführung von Noradrenalin niemals gefäßerweiternde Wirkungen bemerkt wurden (375). Auch unter tetanischen Bedingungen sind eher Verschlechterungen der Mikrozirkulation durch gliale Schwellung beschrieben worden.

Bei den noch geringen Untersuchungszahlen scheint es allerdings denkbar, daß die prozentuale Reduktion zu hoch erfaßt worden ist.

4.1.3 Immerhin fällt die Übereinstimmung von noradrenerger und SDT-P induzierter Reduktionsrate auf. Im Übrigen sollten die gefundenen Reduktionsraten nur als Tendenz für die Beteiligung von Transportmechanismen gelten, da die prozentuale Reduktion ja abhängig

von der eingestellten Höhe des iontophoretisierten Kaliumspiegels ist und hier die Kaliumpulse sehr milde gewählt wurden.

Die ebenfalls reduzierende Wirkung auf den TA-P (Kaliumanstieg) legt per se noch keine Verbindung mit transportstimulierenden Prozessen nahe, da sich hier zunächst ein Einfluß auf inhibitorische Transmissions- und Verschaltungsvorgänge anbietet. Auch im primären (STD-P) und posttetanischen "undershoot" dürften solche Vorgänge eine Rolle spielen. Gerade hinsichtlich der Undershoot-Phänomene sind aber komplexe vermittelnde Faktoren der Kaliumelimination anzunehmen (158, 231, 338, 397), da die ATPase in einem extrazellulär unternormalen Kaliumkonzentrationsbereich sicher nicht auf übliche Art und Weise stimulierbar erscheint. Der "physiologische" Stimulus wird eigentlich erst bei der Zunahme der STD-P auf erhöhtem K^+ -Basisniveau deutlich.

Katecholaminstimulierbare ATPasen sind vor allem in Membranfraktionen gefunden worden (240, 241, 252, 341, 342). Die Anwesenheit noch nicht ganz aufgeklärter Faktoren in submembranalen Fraktionen kann wichtig sein. Die neuronalen und glialen noradrenergen β -Rezeptoren (31, 279) und Adenylcyclasen sind folglich durchaus als Glieder einer funktionellen Kette in der kortikalen Kaliumregulation denkbar.

4.1.4 Die K^+ -Aufnahme der Glia (96, 159, 234, 235) als wesentliches Prinzip extrazellulärer K^+ -Pufferung ist nicht unumstritten. Während vor allem Ransom (319, 320) Argumente für "überproportionale" gliale Kaliumaufnahmefähigkeit präsentierte (so etwa die un-
nennstisch großen Potentialsprünge für definierte (221a) $a_{K_o}^+$ Veränderungen oder die posttetanische und - in epileptogenen Foci - interictale gliale Hyperpolarisation) wurde diese Ansicht durch neuere Messung für eine Reihe von Bedingungen in Frage gestellt (129) oder gänzlich bestritten (254). Auf Grund anderer Untersuchungen mit K^+ -sensitiven Mikroelektroden konnte gezeigt werden, daß Krampfbeginn und K^+ -Akkumulation simultan und nicht nacheinander erfolgen (259). Auch für die Axon - Schwann-Zellinteraktionen wurde übrigens beschrieben, daß der Kaliumausstrom nach kleinen Depolarisationen passiv aus dem intramembranal-
len Raum diffundiert, daß sich aber bei größerem "elektrokinetischem Volumenfluß" die Aufnahmefähigkeit der Schwann-Zellen für Kalium erhöht (2). Das erlaubt, hinsichtlich auch der vorerwähnten Befunde, die Überlegung, ob die K^+ -Aufnahme der Glia eher eine funktionelle Reserve als ein physiologisches Prinzip darstellt.

Gegen die Aufnahme von K^+ durch die Glia wurde eingewandt, daß die Abfallkinetik eines punktförmig gesetzten K^+ -Pulses im wesentlichen einer Diffusionskine-

tik folgt, also eine freie Verteilung im cerebralen Extrazellulärraum (257, 314). Die Frage der Kalium-Rückresorption bei elektrischer Reizung, bei der ja in einem relativ großen kortikalen Bereich ein Konzentrationsausgleich im gesamten Extrazellulärraum vorliegen dürfte, impliziert aber die Beteiligung aktiver Transportprozesse. Im Zusammenhang mit einer diesbezüglichen glialen Aufgabe erscheinen nicht nur die Befunde einer hochaktiven $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in Gliazellen von Bedeutung, die nur unter den Bedingungen des Hirnödems reduziert zu sein scheint (270), sondern auch die Befunde von Glötzner (135), der in durch ALOH experimentell gesetzten epileptogenen Foci durch Bestimmung glialer Membrankonstanten Anhaltspunkte für eine besonders aktive Kalium-Resorption in Narbengewebe fand, so daß von daher die Hypothese einer defekten glialen Kaliumresorption mit nachfolgender Epileptogenese im Narbengewebe nicht wahrscheinlich erscheint.

4.1.5 Zum CGL-stimulierten, der induzierten DC-Positivität an der Kortex-Oberfläche entsprechenden, intrakortikalen K^+ -Abfall (STD-P) einige Beobachtungen und Befunde:

1. DC-Positivitäten (und damit verbundene extrazelluläre K^+ -Abnahme für die Reizabstände zwischen 100 und 200 msec) sind auch in anderen thalamokortikalen Systemen beschrieben (4, 56, 99) und mit K^+ -sensitiven

Elektroden durch Reizung im Nucleus ventrolateralis im sensomotorischen Kortex beobachtet worden (158).

2. Die K^+ -Depression ist mit größter Regelmäßigkeit nur in Area 17 in Schichttiefen zwischen etwa 500 und 900 μ beobachtet worden. In diesen Tiefen befinden sich die 4. und die 5. Schicht mit vorwiegend großen Sternzellen und großen bis mittelgroßen Pyramidenzellen (196), denen funktionell die einfachen und komplexen Zellen in der Terminologie von Hubel und Wiesel zugeordnet werden.

3. Die idealen Reizabstände zur Erreichung des STD-P liegen zwischen 100 und 200 msec.

4. STD-P ist auch in dem als Assoziationsareal geltenden A 18 in anderen Schichttiefen und mit anderen Reizmodalitäten zu beobachten, wobei diese Beobachtungen dann zufällig waren und der ursächliche Faktor sich nicht klären ließ. Bei der Verwendung anderer Reizmodalitäten, also etwa Verkürzung des Reizabstandes, kam es darauf an, dann auch die Reizstärke zu verkleinern.

5. Im visuellen System muß zur Erreichung des STD-P offenbar nicht unmittelbar im präsynaptischen Neuron, sondern es kann auch in davor liegenden Neuronen gereizt werden. Chiasmareizung und Flickerlicht-Reizung führen zu einer Inhibition auf geniculärer Ebene. Die Reizabstände, die auf geniculärer Ebene mit einer K^+ -

Abnahme verbunden waren, lagen in der Untersuchung von Singer u. Lux (361) über 1000 msec. Bei 200 msec Reizabstand, die für den kortikalen STD-P wirksam sind, kam es im Genuiculatum bei entsprechenden stroboskopischen retinalen Reizungen zu einer Erhöhung des Kaliumniveaus bei Singer u. Lux. Einer unveröffentlichten Beobachtung von Singer und Lux nach gelingt es durch Flickerlicht-Reizung aber im Kortex eine $STD-P-K^+$ -Abnahme zu erzeugen. In diesem Zusammenhang ist natürlich an präsynaptische Hemmung auf geniculärer Ebene zu denken. Singer und Lux zeigten aber, daß die mit möglicherweise synaptischer Depolarisation einhergehende Erhöhung der K^+ -Aktivität im CGL durch Reizung der mesencephalen formatio reticularis des visuellen Kortex mit einer Faszilitierung der geniculären Transmissionen, nicht mit einer Hemmung verbunden ist. Immerhin haben die Sekundärphänomene der terminalen Depolarisation einen ähnlichen zeitlichen Verlauf wie $a_{K_O}^+$. Allerdings kam es, wenn der Kalium-Anstieg stroboskopisch verursacht wurde, zu einer antidromen Spike-Amplitudenreduktion, die mögliche Hyperpolarisation trotz erhöhter K^+ -Aktivität zumindest denkbar erscheinen läßt.

4.2

4.2.1 In diesem Zusammenhang war schon früher gezeigt worden, daß die erfaßten Parameter der antidromen Erregbarkeitssteigerung nur adrenerg hemmbar sind (360). Auch ist in Mikroiontophorese-Studien, wie erwähnt, NE vorwiegend inhibitorisch und nur an einigen Interneuronen erregend wirksam (373). Immerhin scheint, da extrazelluläres Kalium als Vermittler der präsynaptischen Hemmung ein wohl zu einfaches Denkmodell ist, eine Diskussion diesbezüglicher noradrenerger Zusammenhänge mit dem K^+ -Transport nicht sehr nützlich. Wenn allerdings die synaptische Erregbarkeitszunahme mit einer erhöhten Transmission einerseits (197, 310, 318), erhöhte extrazelluläre Kaliumaktivität andererseits und schließlich mit einem noradrenergen Antagonismus verbunden ist, dann läßt sich hier ein weiteres Beispiel konstruieren für noradrenerge Inhibition eines neuronalen Prozesses, der mit erhöhter $a_{K_O}^+$ einherging, für dessen Reversion also eine Verringerung der $a_{K_O}^+$ zu erwarten ist.

Selbst unter der Annahme einer durch nicht idealen Reizelektrodensitz bedingten, geniculär weitgehend präsynaptischen Reizung sind die beobachteten kortikalen Reizantworten im Kaliumbereich nicht erklärt. Die Phänomene, die dabei interagieren könnten, sind zahlreich. Das CGL wird über seine sekundären Verschaltungen nicht nur mit kortikalen Assoziationsbahnen, sondern

auch anderen Mittelhirnkernen eine Reihe bahnende und hemmende sowohl interneuronale Verschaltungen als auch Rekurrenzen haben. Es wäre also denkbar, daß in Abhängigkeit von der gewählten Reizweite das jeweilige Muster der Rekurrenzen über die Transmission in den visuellen Kortex entscheidet. Die hohe Zahl der Relaiszellen im Kortex mag auch erklären, daß die Kaliumantworten im CGL bei Einzelreiz oder kurzen Pulstrains länger sind als die gewöhnlich im Kortex beobachteten Antworten. Denkbar, obwohl nicht beschrieben, sind natürlich auch im CGL zeitlich verzögerte Feinverstellungen des Membranpotentials auf chemischer Grundlage bei einem einfachen Eingangsmuster.

Da der kortikale STD-P-Effekt im Normalfall bei geniculärer bzw. postganglionärer Reizung beobachtet wurde, muß zumindest kortikale Inhibition beteiligt sein. Auch hier werden Verschaltungsphänomene zu diskutieren sein. Hinsichtlich der resultierenden Netto-Inhibition stellt sich die Frage nach dem verantwortlichen Transmissions-System. Wie wir gesehen hatten, hatte GABA keinen Einfluß auf die Ruheaktivität, ebenso keinen Einfluß auf den Unterschwing. Wie wir andererseits gesehen haben, haben Noradrenalin und c-AMP einen prinzipiell synergistischen Effekt, bei dem im Falle der Noradrenalinapplikation der STD-P sogar pharmakologisch imitiert werden kann. Es liegt also nahe, Noradrenalin für den für dieses Netto-Phänomen (251)

verantwortlichen Transmitter zu halten. Obwohl die inhibitorische Wirkung von Noradrenalin auf kortikale Neurone vielfach gesehen wurde, bleiben hinsichtlich der funktionellen Zusammenhänge viele Deutungen möglich. Eine Stimulierung neuronaler transmembranaler Rückresorption bzw. glialer Aufnahme von Kalium ebenso wie eine Zunahme der Netto-Inhibition mit zunehmender Netto-Kaliuminaktivierung sind denkbar, wobei dies wieder durch Erregung hemmender Interneurone oder direkt postsynaptisch etwa durch Kopplung an eine elektrogene Natriumpumpe möglich wäre.

Die vorliegenden Befunde schließen, was auch schon früher vermutet wurde, eine noradrenerge Kaliumleitfähigkeitserhöhung zumindest für das beobachtete STD-P-Phänomen mit einiger Wahrscheinlichkeit aus. Die vorliegenden Befunde einer Zunahme des STD-P unter pharmakologischer Einwirkung besonders auf erhöhtem K^+ -Niveau sowie einige indirekte korrelierte biochemische Befunde schließen die Möglichkeit eines stimulierten Membrantransports zumindest nicht aus.

Trotz vielfacher immunhistologischer Evidenz und biochemischer Hinweise und nicht zuletzt pharmakologischer Anhaltspunkte der Rolle von Noradrenalin im Kortex sind - wie erwähnt - die direkt an der Zelle erhobenen Befunde uneinheitlich, dabei häufig passager und von variabler, meist aber deutlicher Latenz. Darüber hinaus erschien die Spezifität einiger neurophysio-

logischer Wirkungen schon allein durch Modifikation der Narkosebedingungen belastet.

Im übrigen ist der Noradrenalingehalt des Gehirns ohnehin innerhalb recht weiter Toleranzgrenzen variierbar, bis hin zur irreversiblen Zerstörung noradrenerger Bahnen durch 6-OH-Dopamin am Versuchstier, ohne wesentliche neurologische und psychische Störungen. (389). Demgegenüber stehen allerdings die eher universalen Hypothesen zur noradrenergen Transmission in der Psychopharmakologie. Es wäre zu fragen, ob sich mit den vorliegenden Befunden Argumente in der einen oder anderen Richtung stützen lassen. Die Anzahl der berichteten Experimente mit Noradrenalin ist noch gering, die Tendenz einer K^+ -demobilisierenden bzw. desaktivierenden Wirkung im Extrazellulärraum ist aber klar erkennbar und steht in guter Übereinstimmung mit neueren biochemischen Untersuchungen zur stimulierenden Einwirkung von Noradrenalin auf die membranale Na^+-K^+ -ATPase bzw. auf membranale elektrogene Kationen-Pumpen. Dabei ist zu fragen, ob Aussagen gegenüber einer durch inhibitorische Vorgänge erklärbaren a_{K^+O} Reduktion hinsichtlich einer aktiven K^+ -Resorption gemacht werden können (179, 186, 207, 221, 236). Es ist weiterhin zu fragen, ob dabei zwischen glialem und neuronalem Transport differenziert werden kann (189, 317) und ob der Transport mit elektrogenen Mechanismen in Zusammenhang gebracht werden kann (7, 55, 67, 94, 200, 216, 256, 336).

Zwar waren die in der Literatur beschriebenen inhibitorischen Vermittlungen (355, 385, 393) mit dem durch die vorliegenden K^+ -Puls-Experimente wahrscheinlich gemachten, transportstimulierenden Eigenschaften über den Gedanke einer elektrogenen Inhibition zu verbinden (147, 150, 157, 161, 197, 233, 239, 310, 382), eine solche Vermutung kann aber auf Grund dieser Experimente nicht als hinreichend beantwortet gelten. Erneut sei auf die experimentellen Daten verwiesen, die für eine Einwirkung von Noradrenalin auf Gliazellen sprechen, so daß immerhin eine gliale Beteiligung an der beobachteten $a_{K_O}^+$ Reduktion nicht ausgeschlossen werden sollte (96, 149, 159, 189, 228, 297, 302).

Die am besten gezeigte noradrenerge Inhibition der Purkinje-Zelle ist ja de facto die Hemmung einer hemmenden Zelle. Nicht nur von daher aber erscheinen Rückschlüsse der eher summarisch erfaßten ionalen Phänomene auf ihre funktionelle Bedeutung durch die ungeklärten Probleme der Verschaltung noch nicht zulässig. Es ist aber denkbar, daß die noradrenerge Inhibition entweder direkt postsynaptisch (13, 59, 203, 231, 239, 352, 392) oder unspezifisch über die Regulation des präsynaptischen $a_{K_O}^+$ Milieus (32, 58, 191, 280, 281, 384) einen modulierenden Einfluß auf die Erregungsintegration des Neurons nimmt (177, 196, 263), zu der gerade auch die häufiger beobachteten Membranwiderstandserregungen beitragen dürfte (127, 214, 355).

Als generelle Perspektive bietet sich bei einem Vergleich der reizphysiologischen und noradrenergen $a_{K_O}^+$ Reduktion eine möglicherweise bedeutende Rolle des Noradrenalins in der Genese des STD-P an. Sollte sich diese Vermutung durch weitere Untersuchungen vor allem mit antagonisierenden, ganglienblockierenden Substanzen bestätigen lassen, ergäbe sich hier die interessante Möglichkeit eines neurophysiologischen "Artefakts" mit noradrenerger Spezifität.

4.2.2 Zur Einschätzung der physiologischen Bedeutung der vorgelegten Befunde stellt sich weiterhin die Frage, wie die unterschiedlichen Einwirkungen von DB-c-AMP zu beurteilen sind und ob es möglich ist, doch einen gemeinsamen Nenner zu finden. An sich erscheint es in guter Übereinstimmung mit dem second messenger Konzept (378), daß die Aktionen des DB-c-AMP offenbar eines vermittelnden erregenden Stimulus bedürfen, ob das nun K^+ -Erhöhung (49, 403), elektrische Reizung (404) oder Noradrenalingabe sei (315-317). So ließen sich jedenfalls ausbleibende c-AMP-Effekte nicht nur auf die Kaliumruheaktivität (158, 225, 226), sondern auch auf den "elektrogenen" PTU-P erklären. "Zusatzfaktor" für das STD-P-Phänomen wäre dann die elektrische Reizung!

4.2.2.1 Auch für Theophyllin wäre neben seiner phosphodiesterase-hemmenden Wirkung (77) gerade hinsichtlich der antagonisierenden Erregbarkeitssteigerung

in einem bestimmten, möglicherweise engen Bereich eine diesbezügliche Spekulation möglich. Es war ja in einigen Ableitungen aufgefallen, daß nicht der STD-P "vertieft", sondern auch die reboundartige $a_{K_O}^+$ Elevation überhöht schienen bei gleichzeitiger DB-c-AMP-Theophyllin-Iontophorese. Allerdings zeigt sich hier zumindest kein Zusammenwirken in der Kaliumelimination unter Basisbedingungen. Im übrigen fällt auf, daß Theophyllin in Konzentrationen, die in den Superfusionsversuchen sich als krampffördernd (und cerebral spasmogen, 121) erwiesen, Adenylcyclasen aktivierende Vorgänge antagonisierten (402), soweit es sich um Hirnhomogenate handelt; in Gliakulturen zeigte sich aber, daß ohne Beifügung von Theophyllin kaum Einwirkungen auf den Cyclasenrezeptor faßbar waren (306a). Das erlaubt wieder die Frage, ob bei der gefundenen gleichgerichteten Wirkung im Iontophoreseversuch Gliarezeptoren nicht maßgeblich beteiligt sein könnten.

Im übrigen könnte man den "überschwelligen" Kaliumantworten bei hoher Theophyllinkonzentration mit offensichtlicher Senkung der Krampfschwelle aber unveränderter Ruheaktivität ebenso wie den "stabilisierenden" reduzierten Antworten unter c-AMP, beide aus dem Basisniveau, entnehmen, daß Regulationssysteme diese Basis für einen gewissen Bereich relativ konstant halten. Wie eingangs erwähnt, gibt es Kalium-Akkumulations-Hypothesen zur Epileptogenese, denen gerade

die nicht c-AMP-korrelierten Theophyllinbefunde dieser Arbeit entgegenstehen. Es ist überlegt worden, ob c-AMP nicht einfach eine dem Calcium vergleichbare stabilisierende Aufgabe in der Membranphysiologie hat (122, 271; 272, 304, 322). Einige Untersucher haben dafür Anhalte gefunden, so daß kurz auf die bekannten Interaktionen von c-AMP und Calcium eingegangen wird.

4.2.2.2 Die Teilnahme von Calcium im Wirkungsmechanismus des c-AMP ist unklar. Calcium gilt als postsynaptischer Membranstabilisator (27, 54). Die Adsorption positiver Calciumionen an der Außenseite der Membranen bewirkt ein elektrisches Feld, das sich dem durch das Ruhepotential geschaffenen Feld anfügt und von dem vermutet wird, daß es zur Stabilität der molekularen Ordnung der Membranen beiträgt (126). (Die Bedeutung membranaler Calciumströme ist in der Erforschung, 219, 258). Außerdem koppelt Calcium die Erregung präsynaptisch mit der Transmittersekretion (192, 193, 229, 244a, 308). Ein Nettotransport in die Synapse scheint mit diesem Vorgang verbunden, oberhalb von $E_{Ca^{++}}$ (+130 mV) sistiert synaptische Transmitterabgabe. Zudem scheint Ca^{++} auch in chromaffinen NNM Zellen mit Catecholaminabgabe verbunden, hier gesteigert durch die Hemmung (durch u.a. als Phosphodiesterasenhemmer wirksame Substanzen) der aktiven Ca^{++} -Extrusion (Leslie 1975). Offenbar reicht aber die bloße Anhebung der $[Ca^{++}]_i$ nicht aus, weitere Faktoren erscheinen erfor-

derlich. C-AMP wurde als Faktor, der entweder zusammen mit Calcium (28, 117, 409), oder über Entbindung von $[Ca^{++}]_i$ (319) die Transmitter-Freisetzung mitbeeinflusst, diskutiert. Einzelne Untersucher zeigten eine "restaurative" Wirkung von c-AMP auf die Beeinflussung der Spikegenese durch wechselnde $[Ca^{++}]_o$ (88, 386). Auch zur positiv inotropen Wirkung wurde erhöhte Ca^{++} -Verfügbarkeit in der neuromuskulären Kopplung bzw. erhöhte Calciumsensitivität des Tropomyosins durch c-AMP-proteinkinase-vermittelte Phosphorylierung vermutet (335). Eine c-AMP vermittelte aktive Ca^{++} -Bereitstellung zur Relaxation glatter Muskulatur wurde diskutiert (14).

Darüber hinaus gilt c-AMP als second messenger für Parathormon (20), auch in der Freisetzung des Calcitonins (Care, 1971) erscheint c-AMP beteiligt. Im biochemischen Bereich scheint Calcium bei der c-AMP vermittelten Aktivierung der Insulinfreisetzung beteiligt (155, 191a, 210), außerdem spielt es eine Rolle bei der Freisetzung von ACTH im Hypothalamus (326).

Eine Reihe von Argumenten spricht gegen generell synergistische Bedeutung des Calciums in der c-AMP-Physiologie. Ganz allgemein nämlich ist Calcium ein potenter Hemmer der Adenylcyclase (262, 348), so daß entgegen den zuvor erwähnten Befunden der exzitatorische Ca^{++} -Einstrom ebenso wie die intrazelluläre

Mobilisation, im Sinne einer negativen feed-back Hemmung der Adenylcyclase interpretierbar sind. Zudem scheint Calcium, für das es ja eine $\text{Na}^+\text{Ca}^{++}$ -ATPase gibt (26), auch die Noradrenalin-Aktivierung der Na^+K^+ -ATPase zu hemmen (74). Darüber hinaus wurde, wie schon häufig angedeutet, ein Calcium-Ausstrom als pharmakologischer Effekt oder Nebeneffekt beobachtet. Dies steht per se nicht unbedingt im Widerspruch mit der Hypothese der intrazellulären Calciumfreisetzung, allerdings wurden gerade hinsichtlich der c-AMP-Relaxierung glatter Muskulatur auf intrazelluläre Ca^{++} -Bindung (14, 370) oder fehlende Interaktion (1) hingewiesen. Auch am Herzmuskel hatte c-AMP keinen Einfluß auf Ca^{++} -Bindung, -Abgabe, -Aufnahme oder -Austausch sarcotubulärer Vesikel (97).

Generell ist die synaptosomale Adenylcyclasen-Aktivität umstritten (35), die präsynaptische Bedeutung des c-AMP erscheint fragwürdig. Hinsichtlich der cerebralen postsynaptischen Bedeutung tauchten Argumente auf zu der Möglichkeit, daß außer in den erwähnten neurosekretorischen Neuronen, im Gehirn weitere Adenylcyclasen vorkommen, die nicht Calcium-hemmbar sind (145), und schließlich gibt es weitergehende Überlegungen zur Rolle der Substanz P in der Ca^{++} -Modifikation der Adenylcyclase (101).

Auch die Ca^{++} -Wirkungen auf Phosphodiesterasen (16) erwiesen sich übrigens, so vorhanden, als "bio-

logisch uneinheitlich". Gewebeabhängig findet man Hemmung und Aktivierung, letztere zusammen mit einem Protein-Aktivator. (190). Die Überlegungen zur Ca^{++} -c-AMP-Interaktion erscheinen gerade auch wegen der Kopplungen von Calciumströmen (27) mit der K^+ -Aktivierung hinsichtlich der durchgeführten Untersuchung von Bedeutung (219, 222, 258). Auch wurde der c-AMP-stimulierte Na^+ -Transport an der Froschhaut von Marguerot (265) als La^{++} , nicht c-AMP vermittelt gesehen. Meech (271, 272) sah die PTH (293) bei Aplysia, Kregenov (222) den Kaliumtransport in Humanerythrozyten "Calcium induziert".

Die Widersprüchlichkeit der vorliegenden Befunde ist evident. Von daher erscheint es nicht sinnvoll, die vorliegenden Meßergebnisse mit Spekulationen über eine mögliche Beteiligung des Calciums zu verbinden, was sich natürlich bei besser gesicherten Konzepten anbieten würde.

Prinzipiell ist es möglich, aus einigen der gesehenen AMP-Aktionen eine Membranstabilisierung zu konstruieren, die K^+ -eliminierende Rolle über, besonders unter Ruheniveau legt andere Interpretationen näher.

4.3 Eine Parallele zu dem gefundenen Verhalten des c-AMP gegenüber dem Kalium findet sich übrigens in Somlyos (370, 371) Untersuchungen zur c-AMP-Wirkung an der glatten Muskelzelle. Somlyo fand hyperpolarisierende Eigenschaften des AMP, die sich verstärkten, wenn er Kalium im Medium etwas reduzierte. Zwar müßte sich bei einer solchen Maßnahme die Potentialbildung "nernstisch" etwas vergrößern. Zur vermuteten elektrogenen Wirkung aber wurde gezeigt, daß die Hyperpolarisation nach Natriuminjektionen bei Verringerung der Kaliumaktivität im Medium abnahm. Das wurde mit einer verminderten Stimulation der Na^+K^+ -ATPase erklärt. Somlyo hatte zur Erklärung seiner Befunde Überlegungen von Casteels (69, 70) herangezogen, nach denen sich durch den vermindert transportierten Kaliumeinwärtsstrom ein verminderter Kurzschluß ergebe, der sich auf die Gleichrichtungeigenschaften der Membran auswirken müßte (56, 127, 192). Prinzipiell fand sich übrigens eine weitere Übereinstimmung mit den Befunden an der glatten Muskelzelle (292, 371), nämlich der zunehmenden Abschwächung der c-AMP-Effekte bei Überschreiten einer gewissen Grenze der Kaliumaktivitätserhöhung. So war während der vorliegenden Experimente bei gelegentlichen Krämpfen, die Aktivitätserhöhungen bis in einen solchen Bereich mit sich brachten, tatsächlich kein Effekt zu sehen. Allerdings ist in diesem Konzentrationsbereich bereits eine erhebliche "Nernstische" Depolarisation zu erwarten (188). Eine

regulierende Beteiligung in der nicht geklärten Frage, warum praktisch nur unter den Bedingungen der spreading depression (53, 224, 244b) oder postmortal (326) höhere persistierende Kaliumwerte im Kortex gesehen werden, spielt für c-AMP also offenbar keine Rolle, obgleich es in diesen Konzentrationsstufen ja eine deutliche Stimulation der Adenylcyclase gibt.

Somlyos Ausführungen der Stimulierung einer elektro-genen Pumpe durch c-AMP waren insgesamt wohl experimentell noch nicht ausreichend untermauert. Zwischenstufen des hyperpolarisierenden Membranverhaltens unter verschiedenen Kaliumkonzentrationsstufen wurden nicht untersucht.

Trotz der Fragwürdigkeit der Beteiligung des extrazellulären Ionenmilieus am funktionalen Geschehen im Compartment, die im Zusammenhang mit der präsynaptischen Hemmung diskutiert wurde, sei doch noch einmal zur Diskussion gestellt, daß auch kritische Autoren einen co-faktoriellen Einfluß des K^+ für möglich halten. Obgleich etwa die Potenzierung des slow IPSPs auch bei intrazellulärer AMP-Iontophorese registriert wurde, erscheint es bei der gesehenen, unter Umständen machtvollen Steigerung der K^+ -Elimination nicht ausgeschlossen, daß eine solche Reduktion regional in das Feinspiel möglicher Nernstischer Hyperpolarisation einerseits und synaptischer Quantifizierungen anderer-

seits mit einzugreifen vermag.

Bei den Überlegungen zu einer möglichen Interaktion der Na^+K^+ -ATPase (102) mit der Adenylcyclase, die sich ja aus direkten und indirekten, dem c-AMP zugeschriebenen elektrogenen und transportstimulierenden Eigenschaften ergeben, muß davon ausgegangen werden, daß die Literatur darüber äußerst widersprüchlich ist und eine Reihe von Arbeiten sich offenbar als sehr angreifbar erwiesen und viel Kritik (34, 264, 312) hervorgehoben haben. Gegen einen denkbaren stimulierenden Einfluß der Adenylcyclase auf die ATPase wurde eingewandt, daß ja beide Enzyme um das gleiche Substrat konkurrieren, nämlich ATP (8, 10, 11, 91, 91). Das würde bedeuten, daß stimulierter ATP-Abbau durch c-AMP der Adenylcyclase praktisch das Substrat entzieht. Es gibt Hinweise darauf, daß der Adenylcyclase nur ein sequestrierter ATP-Pool zur Verfügung steht, der zwischen 0,5% und 10% des gesamten ATP-Gehalts der Membran ausmachen soll (141, 142, 143). Über diesen Pool hinaus dürfte die Adenylcyclase dann kaum, nur unter Extrembedingung, Zugang zu ATP haben. Es erscheint unter dieser Voraussetzung kaum wahrscheinlich, daß eine stimulierte ATPase (112) auf den ATP-Pool der Adenylcyclase zurückgreifen muß. Hierbei ist einerseits von Interesse, daß dem ATP wie ja auch dem Adenosin unter Umständen eine gewisse Transmitterfunktion zukommen (48, 246, 385). Andererseits gibt es die Hinweise auf

Beziehungen zwischen K^+ -Transport und metabolischer Aktivität, in die ja immer "catecholaminerge" Glucosebereitstellung mit hineinspielt (15, 17, 29, 82, 139, 140, 156, 173, 253, 291).

Seit den ersten Untersuchungen von Albers (10) wurden vielfache Experimente unternommen, um möglicherweise einen direkten stimulierenden Einfluß auf die ATPase durch c-AMP zu überprüfen. Es sind jedoch gar keine oder nur negative Korrelationen (278) berichtet worden. Andererseits konnte gezeigt werden, daß unter Erregungsbedingungen bis herunter zu Konditionierungsexperimenten Veränderungen in der Phosphoproteinfraktion der Membran zu finden waren (218). Man nahm an, daß ein Phosphoprotein (25) direkt als Carrier in den Transport mit eingeschaltet ist, konnte diese Hypothese aber nicht ausbauen. Immerhin ließen sich zu den parallel laufenden Anstiegen der Gewebekonzentrationen des c-AMP Beziehungen setzen, dessen Protein- und Phosphokinase-aktivierende Funktion ja bekannt ist (130, 232, 237, 252, 334). Schwartz (349) diskutiert drei generelle Mechanismen, über welche Adenylcyclase - ATPase miteinander in Beziehung stehen könnten. Es besteht 1. die Frage, ob Adenylcyclase und ATPase zwei verschiedene Aktivitäten ein und desselben Membranproteins sein könnten, das in Abhängigkeit von den Bedürfnissen jeweils eine der katalytischen Funktionen annimmt. Dagegen spricht natürlich, daß bei Erregungsbe-

dingungen sowohl die ATPase als auch die Adenylcyclase maximal arbeiten. Die zweite Überlegung war die schon angedeutete, ob die AMP-aktivierten Proteinkinasen eine phosphorylierende Einwirkung (22, 62, 63, 66) auf die ATPase haben (100). Bei der dritten Überlegung taucht wieder Calcium als hypothetisches Bindeglied auf. Schließlich wird erörtert, ob die Hemmung der ATPase durch Kaliummangel (18) assoziiert sein könnte, durch einen Sensitivitätsverlust der Adenylcyclase etwa gegen Adrenalin. Die meisten Untersuchungen und Anschlußuntersuchungen zeigten aber durchweg negative Resultate. Hinsichtlich der Proteinkinasen-Interaktion wurde eingewandt, daß kein Membranphosphoprotein einen ausreichend schnellen turnover hat, um den erforderlichen schnellen Rücktransportmechanismen etwa unter der Erregung zu entsprechen. Schwartz und seine Gruppe (100) fanden, daß die c-AMP katalysierte Proteinkinase phosphorylierende Wirkungen auf die ATPase selbst haben kann. Neuere Arbeitsgruppen widersprachen auf Grund eigener Resultate dieser Ansicht. Im Laufe des letzten Jahres sind nun aber erstmals Arbeiten erschienen, die direkte Interaktion zwischen c-AMP und ATPasen auf der einen Seite und - wie erwähnt - Noradrenalin und ATPasen auf der anderen Seite darstellen konnten (181, 238, 240, 241, 245, 341, 390). Die Arbeitsgruppe von Schwartz konnte ihre Befunde über die Interaktion der Proteinkinasen mit der Na^+K^+ -ATPase reproduzieren und ausbauen. Dieser gedankliche An-

satz erscheint besonders plausibel. Unabhängig davon konnten zwei Arbeitsgruppen an Gewebekulturen (238, 245) eine eindeutige Steigerung der ATPasen-Aktivität sichern, wobei dies allerdings, wohl durch die spezifische Technik bedingt, erst im Verlauf einiger Tage festgestellt wird.

Abschließend sei erwähnt, daß die elektrolytverschiebenden Effekte, wie sie in der vorliegenden Arbeit im Bereich des cerebralen Mikrocompartments sichtbar gemacht wurden, im klinisch-pharmakologischen Bereich bereits genutzt werden und zunehmende Relevanz erfahren; β -stimulierende Substanzen erwiesen sich nicht nur im Tierexperiment als Antagonisten einer Kaliumintoxikation (251), sondern werden (z.B. Solbutamol) zunehmend erfolgreich (398) gegen die familiäre hyperkaliämische periodische Lähmung (175) eingesetzt.

5.

Zusammenfassung

Bei repetitierter Elektrostimulation des Gehirns erzeugt man in Abhängigkeit mit den Reizparametern Veränderungen der extrazellulären Kaliumaktivität, die mit ionensensitiven Mikropipetten direkt intrakortikal erfaßbar sind. Solche Mikropipetten lassen sich unter Verwendung eines flüssigen Ionenaustauschers herstellen. In Kombination mit weiteren Mikropipetten läßt sich zugleich die extrazelluläre elektrische Aktivität registrieren; zugleich sind auch mit Hilfe mikroelektrophoretischer Techniken mikropharmakologische Untersuchungen möglich.

Der Einfluß dreier typischer Transmitterkandidaten auf die extrazelluläre Kaliumaktivität wurde dementsprechend untersucht. Der inhibitorische Transmitter γ -Aminobuttersäure beeinflusst vor allem die Chloridleitfähigkeit. Veränderungen der extrazellulären Kaliumaktivität waren deshalb, wenn überhaupt, nur indirekt über die Hemmung der neuronalen Erregbarkeit zu erwarten. Aus der Reihe der Katecholamine vermittelt das Noradrenalin bei einer Vielzahl zerebraler Neuronen eine etwas verzögerte langdauernde Hemmung. Die Physiologie dieser Hemmung ist nicht geklärt. Sie geht häufig, besonders in der Purkinje-Zelle des Kleinhirns, mit einer Erhöhung des Membranwiderstandes einher.

c-AMP gilt als intrazellulärer second messenger

extrazellulärer Hormon- und Transmittereinwirkungen. Es gibt zahlreiche Hinweise, daß das katalysierende Enzym des cyclischen 3'5'-Adenosinmonophosphates, die Adenylcyclase, in vielen Bereichen des Nervensystems durch Katecholamine stimulierbar ist. In einigen Untersuchungen konnten dann neuronale Effekte von Noradrenalin und Dopamin durch Applikation des c-AMP bzw. seines Dibutyrylderivates, nachgeahmt werden. (Hoffer et al., 1969). Durch Hemmung der c-AMP-abbauenden Phosphodiesterasen kann indirekt pharmakologisch Einfluß auf durch den second messenger vermittelte Membranvorgänge genommen werden. Aus der Reihe der Methylxanthine wurde in der vorliegenden Arbeit das Theophyllin verwendet.

Die untersuchten Transmitterkandidaten wurden auch hinsichtlich klinischer Hypothesen sowie hinsichtlich einiger neuerer Forschungsergebnisse einleitend präsentiert.

Im weiteren wurden die theoretischen und taktischen Implikationen der verwendeten Meßtechniken und Iontophoresetechniken dargestellt. An der Grenzfläche eines Ionenaustauschers bildet sich bei hoher Selektivität eines bestimmten Ions ein vom Konzentrationsgradienten der Austauscherrlösung bestimmtes Potential, das sich biophysikalisch mit den an semipermeablen Membranen gefundenen Gleichungen beschreiben läßt.

Die vorliegenden Befunde wurden an 33 Katzen in insgesamt 42 Experimenten erhoben. In einigen Fällen

wurden verschiedene pharmakologische Experimente an derselben Katze durchgeführt. Dabei wurden die Kaliumaktivitäten im visuellen Kortex gemessen. Gleichzeitig wurde intrakortikal durch Verwendung von Doppelkanalelektroden das Feldpotential und an der Kortexoberfläche das Elektrokortikogramm (EEG) mitregistriert. Die Messungen wurden in Schichttiefen zwischen 600 und 1000 μ durchgeführt und zwar im Bereich der Area 17 und Area 18. Reizung erfolgte an der Kortexoberfläche und im Corpus geniculatum laterale. Durch Modifikation im Herstellungsverfahren der ionensensitiven Elektroden gelang es, stabile und auch intrakortikal bis zu 12 Stunden brauchbare kaliumsensitive Elektroden zu bekommen. Konstanz in der Potentialbildung ist Voraussetzung für verwertbare mikropharmakologische Untersuchungen.

Zur Beschreibung der reizabhängigen Verläufe der extrazellulären Kaliumaktivität wurden Abkürzungen geprägt, die sowohl in der Arbeit als auch in der Einleitung ausführlich erklärt und abgerundet wurden. Eine wichtige, zuvor schon von Lux und Singer gemachte Beobachtung war, daß unterhalb einer kritischen Reizfrequenz, zwischen 6 und 15 pro Sekunde in Abhängigkeit von der Reizintensität im CGL die kortikale Kaliumaktivität abnimmt, wohingegen sie oberhalb dieser Frequenz, also im "tetanischen" Bereich, gewöhnlich einen Anstieg der $a_{K^+}^o$ zur Folge hat. Poststimulatorisch sind Nachschwan-
kungen, die meist in die entgegengesetzte Richtung

auslenken, zu beobachten. Alle reizbedingten Kaliumaktivitätsänderungen sowie die Wiedereinstellungsvorgänge auf Ruheaktivität wurden in einer Reihe von elektrochemischen und zeitlichen Parametern erfaßt. Statistisch auswertbare und hochsignifikante Ergebnisse waren am ehesten durch eine planimetrische Auswertung der unmittelbar reizbedingten Kaliumaktivitätsveränderungen zu erhalten. Bei den Wiedereinstellungsvorgängen auf Ruhenniveau konnten keine statistisch signifikanten Resultate erzielt werden.

Die Grundaktivität des Kaliums unter Ruhebedingung lag zwischen 2,9 und 3 mMol, mit durchschnittlichen Spontanschwankungen im Bereich von $\pm 0,2$ mMol. Unter tetanischer Reizung stieg die Kaliumaktivität höchstens auf 7 mMol/l. Dieser Bereich wurde nur unter Krampfbedingungen überschritten. Posttetanisch wurde die Ruheaktivität meist nicht mehr als 0,4 mMol unterschritten, sie können nach Krampfentladungen wesentlich ausgeprägter sein. Auch beim primären Unterschwing lagen die Absolutwerte der Aktivitätsabnahme zwischen $-0,2$ und $-0,4$ mMol. Zur Überprüfung des Einflusses der untersuchten Substanzen auf die Kaliumelimination wurden Kaliumtestpulse gegeben. Die dabei erzielten Konzentrationsveränderungen über Ruhenniveau lagen bei $+1,2$ $\pm 0,8$ mMol. Bis zu einer Schichttiefe bis zu 800 μ zeigten Oberflächen- und Feldpotential einen gleichsinnigen "negativen" DC-Verlauf. In tieferen Kortexschichten

kommt es bekanntlich zu einer Umkehr des Feldpotentials. Kalium und DC-Kinetiken hatten häufig einen äußerst ähnlichen zeitabhängigen Verlauf.

In 4 von 6 Experimenten zeigte sich unter Noradrenalin eine Verminderung der Ruheaktivität um bis zu $-0,4 \text{ mMol/l}$. Als Zeichen erhöhter Kaliumelimination waren stereotype Kaliumpulse bei gleichzeitiger Noradrenalinapplikation vermindert, und zwar bis zu 45%. Eine dementsprechend erhöhte Zunahme der Kaliumelimination ist anzunehmen. Eine in gleicher Weise gesteigerte Kaliumelimination fand sich während der subcutanen kortikalen a_{K^+} Diminution (STD_{K^+}). DB-c-AMP hatte in keinem Experiment Einfluß auf die Ruheaktivität, zeigte aber ebenfalls eine Einwirkung auf die Kaliumelimination der Kaliumpulse. Im Gesamtverlauf war eine bis um 40% gesteigerte Eliminierung zu beobachten (6 Experimente). In 12 Experimenten wurde die perstimulatorische Anstiegskinetik (TA_{K^+}) im Mittel um 13% reduziert. Dementsprechend fand sich eine gleichgerichtete Zunahme des primären Unterschwings; die Abnahme der Ruheaktivität war bis zu einem Mittel von 28% verstärkt. Wohingegen der posttetanische Unterschwing (PTU_{K^+}) keine solche Tendenz zeigte. Die Effekte von DB-c-AMP auf den primären Unterschwing konnten bei gleichzeitiger iontophoretischer Applikation von Theophyllin noch gesteigert, wohingegen Theophyllin in 4 Superfusionsexperimenten regelmäßig eine Steigerung

des TA_K^+ um bis zu 100% zur Folge hatte und zudem erwartungsgemäß die Krampfschwelle erheblich herabsetzte. GABA zeigte ebenfalls eine Depression des TA_K^+ . Insbesondere der Einfluß auf den STD_K^+ war gering und zeigte keine vergleichbare Signifikanz (4 Experimente).

Die Befunde werden diskutiert im Hinblick auf das second messenger-Konzept. Es fiel auf, daß DB-c-AMP und Noradrenalin gleichgerichtete und vergleichbare Effekte vor allem unter den Bedingungen erhöhter Erregbarkeit im Kompartiment zeigten (Elektrostimulation und Kaliumdepolarisation). Unter Ruhebedingungen zeigten sich unterschiedliche Wirkungen, wobei die Problematik des extrazellulär applizierten, intrazellulär aber wirksamen DB-c-AMPs diskutiert wurden. Die vor allem Kalium reduzierenden Wirkungen der untersuchten Substanzen wurde erörtert erstens im Hinblick auf die allgemein inhibitorische Natur dieser Transmitter, zweitens im Hinblick auf mögliche Interaktionen mit anderen Elektrolyten. Einige neuere Untersuchungsbefunde über den Zusammenhang von Ca^{++} und dem second messenger-System wurden dazu herangezogen. Drittens im Hinblick auf die mögliche aktive Kalium eliminierende Funktion von Noradrenalin und c-AMP, wobei gerade auch die Möglichkeit einer solcherart vermittelten elektrogenen Inhibition miteinbezogen wird. Die eine solche Hypothese stützende Literatur über Interaktionen der Adenylcyclase mit der Natrium-Kalium-ATPase wird aufgeführt.

7. Akaike, N., Activation of electrogenic sodium pump in mammalian skeletal muscle by external cations. Pflügers Arch. 355 (1975), 281-290.
8. Albers, R.W., Fahn, S., Koval, G.J., The role of sodium ions in the activation of Electrophorus electric organ adenosine triphosphatase. Proc.Nat.Acad.Sci. 50 (1963)
9. Albers, R.W., Koval, G.J., Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of Electrophorus electric organ. III. An associated potassium-activated neutral phosphatase. J.Biol.Chem. 241 (1966), 1896-1893.
10. Albers, R.W., Biochemical aspects of active transport. Ann.Rev.Biochem. 36 (1967), 727-756.
11. Albers, R.W., Koval, O., The Na^+ active transport system. Properties of K^+ activation. Proc.Physiol.Soc. 8 (1971, Abs.
12. Anderson, G.G., Speroff, L., Prostaglandins. Science 171 (1971), 502-504.
13. Andersen, O-S., Fuchs, M., Potential energy barriers to ion transport within lipid belayers. Studies with tetraphenylborate. Biophysic.J. 15 (1975), 795-830.
14. Andersson, R., Lundholm, L., Mohne-Lundholm, E., Nilsson, K., Role of cyclic AMP and Ca^{++} in metabolic and mechanical events in smooth muscle. Adv.Cycl.Nucl.Res. 1 (1972), 213-229.

15. Andjelkovic, D., Effect of adrenergic substances on oxygen consumption of rat brain tissue. J.Pharm.Pharmacol. 26 (1974), 138-139.
16. Appleman, M.M., Thompson, W.J., Russell, T.R., Cyclic nucleotide phosphodiesterases. Adv. Cycl.Nucl.Pes. 3 (1973), 65-97.
17. Arczynska, W., Girardier, L., DeSousa, F.C., A comparative study of the effects of norepinephrine and vasopressine on Na^+ transport and O_2 consumption in frog skin. Experientia 31 (1975), 706.
18. Armando-Hardy, M., Ellory, J.C., Lew, V.L., Uncoupled Na-efflux through the Na-pump. J.Physiol. (Lond.) 231 (1973), 110-111.
19. Ascher, P., Electrophoretic injections of dopamine on Aplysia neurones. J.Physiol. (Lond.) 198 (1968), 48-49.
20. Aurbach, G.D., Marcus, R., Heersche, J., Marx, S., Hormones and other factors regulating calcium metabolism. Ann.N.Y.Acad.Sci. 185 (1971), 386-394.
21. d'Auriac, A., Worcel, G.M., Variations in cGMP and cAMP levels in rat uterine smooth muscle induced by carbachol, PGF and changes in ionic composition. Brit.J.Pharmacol. 54 (1975), 236P.

22. Axelsson, J., Bueding, E., Bulbring, E., The action of adrenaline on phosphorylase activity and membrane potential of smooth muscle. J. Physiol. (Lond.) 148 (1959), 62-63.
23. Ayala, G.F., Matsumoto, H., Gumnit, R.J., Excitability changes and inhibitory mechanisms in neocortical neurons during seizures. J. Neurophysiol. 33 (1970), 73-85.
24. Ayala, G.F., Dichter, M., Gumnit, R.J., Matsumoto, J.H., Spencer, W.A., Genesis of epileptic interictal spikes. New knowledge of cortical feedback systems suggest a neurophysiological explanation of brief paroxysms. Brain Res. 52 (1973), 1-17.
25. Baker, P.F., Phosphorus metabolism of intact crab nerve and its relation to the active transport of ions. J. Physiol. (Lond.) 180 (1965), 383-423.
26. Baker, P.F., Blaustein, M.P., Mantil, J., Steinhardt, R.A., A ouabaine insensitive Ca^{++} sensitive sodium efflux from giant axons of *Loligo*. J. Physiol. (Lond.) 191 (1967), 100-102.
27. Baker, P.F., Willis, J.S., Number of sodium pump-sites in cell membranes. Biochim. Biophys. Acta 183 (1969), 646-649.

28. Baker, P.F., Blaustein, M.P., Hodgkin, A.L., Steinhardt, R.A., The influence of Ca^{++} on sodium efflux in squid axons. J.Physiol. (Lond.) 200 (1969), 431-458.
29. Banay-Schwartz, M., Teller, D.N., Gergely, A., Lajtha, A., The effects of metabolic inhibitors on amino acid uptake and the levels of ATP, Na^+K^+ in incubated slices of mouse brain. Brain Res. 71 (1974), 117-131.
30. Barden, N., Labrie, F., Cyclic adenosine 3'5'monophosphate-dependent phosphorylation of ribosomal proteins from bovine anterior pituitary gland. Biochemistry 12 (1973), 3096.
31. Batzri, S., Selinger, Z., Schramm, M., Potassium ion release and enzyme secretion. Adrenergic regulation by α and β receptors. Science 174 (1971), 1029.
32. Baylor, D.A., Nicholls, J.G., Changes in extracellular potassium concentration produced by neuronal activity in the central nervous system of the leech. J.Physiol. (Lond.) 203 (1969), 555-569.
33. Beani, L., Bianchi, C., Bertelli, A., Effects of cyclic nucleotides on behavior, electrocorticogram and cortical acetylcholine release. Pharmacol.Res.Comm. 7 (1975), 347-360.

34. Beaugé, L.A., Sjodin, R.A., Ortiz, O., The independence of membrane potential and potassium activation of the sodium pump in muscle. Biochim.Biophys.Acta 389 (1975), 189-193.
35. De Belleruche, J.S., Das, I., Bradford, H.F., Absence of an effect of histamine, noradrenaline and depolarizing agents on the levels of adenosine 3'5'-monophosphate in nerve endings isolated from cerebral cortex. Biochim. Pharmacol. 23 (1974), 835-843.
36. Benfey, B.G., Inotropic effect of sympathicomimetic amines and cardiac adenyl cyclase activity. Proc.Physiol.Soc. IV (1971), 52.
37. Berman, H.J., Herbert, N.C., Ionselective microelectrodes. Adv.Exp.Med.Biol. 50, Plenum Press, New York (1974).
38. Bernstein, J., Untersuchungen zur Thermodynamik der bioelektrischen Ströme. Pflügers Arch.ges. Physiol. 92 (1902), 521-562.
39. Berridge, M.J., Prince, W.T., The role of cyclic AMP in the control of fluid secretion. Adv. Cycl.Nucl.Res. 1 (1972), 138-147.
40. Besley, G.T.N., Frith, D.A., Snart, R.S., An inhibitor of the toad bladder cyclic AMP system and theophylline stimulated Na^+ transport. Steroids and Lipid Research 5 (1974), 365-379.

41. Besson, J.M., Woody, C.D., Aleonard, P., Thompson, H.K., Albe-Fessard, D., Marshall, W.H., Correlations of brain D-C shifts with changes in cerebral blood flow. Amer.J.Physiol. 218 (1970), 284-291.
42. Blaustein, M.P., Barbiturates block sodium and potassium conductance increases in voltage clamped lobster axons. J.Gen.Physiol. 51 (1968), 293-307.
43. Blaustein, M.P., Effects of potassium, veratridine and scorpion venom on calcium accumulation and transmitter release by nerve terminals. J.Physiol. 247 (1975), 617-656.
44. Bogdanski, D.F., Blaszkowski, T.P., Role of extravesicular energy conservation reactions in retention of norepinephrine by adrenergic nerve endings. Neuropharmacol. 14 (1975), 11-20.
45. Bojanovsky, J., Kali, W., Tölle, R., Elektrolytveränderungen unter antidepressiver Therapie. Schlafentzug und Thymolepsie. Arch.Psychiat. Nervenkrht. 218 (1974), 379-386.
46. Bourke, R.S., Nelson, K.M., Naumann, R.A., Young, O.M., Studies of the production and subsequent reduction of swelling in primate cerebral cortex under isoosmotic conditions in vivo. Exp. Brain Res. 10 (1970), 427-446.

47. Bourke, R.S., Kimelberg, H.K., West, C.R., Bremer, A.M., The effect of HCO_3^- on the swelling and ion uptake of monkey cerebral cortex under conditions of raised extracellular potassium. J.Neurochem. 25 (1975), 323-328.
48. Boyd, H.J., ATP as a nerve transmitter substance. J.Theor.Biol. 42 (1973), 49-53.
49. Boyle, P.J., Conway, E.J., Potassium accumulation in muscle associated changes. J.Physiol. (Lond.) 100 (1941), 1-63.
50. Brading, A.F., Widdicombe, J.H., An estimate of sodium/potassium pump activity and the number of pump sites in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli, using ^3H ouabain. J.Physiol. 238 (1974), 235-249.
51. Bressler, B.H., Phillis, J.W., Kazachuk, W., Noradrenaline stimulation of a membrane pump in frog skeletal muscle. Europ.J.Pharmacol. 33 (1975), 201-204.
52. Breckenridge, B.McL., Cyclic AMP and drug action. Ann.Rev.Pharmacol. 10 (1970), 19-34.
- 52a. Breckenridge, B.McL., Bray, J., Cyclic AMP and nerve function. Adv.Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 325-333.
53. Brinley, F.J., Kandel, E.R., Marshall, W.M., Potassium outflow rabbit cortex during spreading depression. J.Neurophysiol. 23 (1960), 246.
54. Brink, F., The role of calcium ions in neural processes. Pharmacol.Rev. 6 (1954), 243.

55. Brodwick, M.S., Junge, D., Post-stimulus hyperpolarization and slow potassium conductance increase in Aplysia giant neurone. J.Physiol. 223 (1972), 549-570.
56. Brookhart, J.M., Zanchett, A., Changes in cortical excitability during recruitment potential. Fed.Proceed. 13 (1954), 18.
57. ten Bruggencate, G., Lux, H.D., Liebl, L., Possible relationships between extracellular potassium activity and presynaptic inhibition in the spinal cord of the cat. Pflügers Arch. 349 (1974), 301-317.
58. Bruinvels, J., Regulation of the uptake of monoamines and their amino acid precursors by sodium and potassium. Exp.Brain Res. 23 Suppl (1975), Abs. 55.
59. Burnstock, G., The action of adrenaline on, and excitability and membrane potential in, the taenia coli of the guinea pig and the effect of DNP on this action and on the action of acetylcholine. J.Physiol. (Lond.) 143 (1958), 183-194.
60. Butcher, R.W., Ho, R.J., Meng, H.C., Sutherland, E.W., Adenosine 3'5'-monophosphate in biological materials. J.Biol.Chem. 240 (1965), 4515-4523.
61. Butcher, R.W., Prostaglandins and cyclic AMP. Adv.Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 173-183.

62. Caldwell, P.C., Hodgkin, A.L., Keynes, R.D., Shaw, T.I., The effects of injecting "energyrich" phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of *Loligo*. J.Physiol. (Lond.) 152 (1960), 561-590.
63. Caldwell, P.C., Energy relationships and the active transport of ions. Current Topics in Bioenergetics, ed. Senadi, D.R., 3 (1969), 251-271, Academic Press New York.
64. Cameron, I.R., Poole-Wilson, P.A., The effect of an acute acidosis on the potassium content of cardiac muscle. J.Physiol. 234 (1973), 32-33.
65. Carmeliet, E.E., Lieberman, M., Increase of potassium flux by valinomycin in embryonic chick heart. Pflügers Arch.Physiol. 358 (1975), 243-258.
66. Carnegie, P.R., Kemp, B.E., Dunkley, P.R., Murray, A.W., Phosphorylation of myelin basic protein by an adenosine 3'5' cyclic monophosphate-dependent protein kinase. Biochem.J. 135 (1973), 569-572.
67. Carpenter, D.O., Alving, B.O., A contribution of an electrogenic Na^+ pump to membrane potential in *Aplysia* neurons. J.Gen.Physiol. 52 (1968), 1-21.
68. Caspers, H., Speckmann, E.J., DC-potential shifts in paroxysmal states. In: Basic Mechanism of the Epilepsies. H.H. Jasper, A.A. Ward, A.Pope (eds.). Little, Brown & Co., Boston (1969), 375.

69. Casteels, R., Calculation of the membrane potential in smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia coli by the Goldman equation. J.Physiol. 205 (1969), 193-208.
70. Casteels, P., Droogmans, G., Hendrickx, H., Electrogenic sodium pump in smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia coli. J.Physiol. 217 (1971), 296-313.
71. Castellucci, V.F., Goldring, S., Contribution to steady potential shifts of slow depolarization in cells presumed to be glia. Electroenceph. Clin.Neurophysiol. 28 (1970), 109-118.
72. Cedar, H., Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Cyclic adenosine monophosphate in the nervous system of aplysia californica I. increased synthesis in response to synaptic stimulation. J.Gen. Physiol. 60 (1972), 558-587.
73. Chagas, M.C., Esquibel, M.A., Milhaud, M.G., Action d'inhibiteurs de la phosphodiesterase sur la décharge électrique de l'électroplaque isolée dans l'*Electrophus electricus*. R.C.Acad. Sci.Paris 274 (1972), 1341-1344.
74. Chappius, A., Enz, A., Iwango, P., Der Einfluß adrenerger Effektoren auf die Kationenpumpe der Hirnzellmembran. Triangel Sandoz 14 (1975), 93-98.

75. Charnock, J.S., Almeida, A.F., To, R., Temperature activity relationships of cation activation and Ouabain inhibition of $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase. Arch.Biochem.Biophys. 167 (1975), 480-504.
76. Chasin, M., Mamrak, F., Smaniego, S.G., Hess, S.M., Characteristics of the catecholamine and histamine receptor sites mediating accumulation of cyclic adenosine 3'5' monophosphate in guinea pig brain. J.Neurochem. 21 (1973), 1415-1427.
77. Cheung, W.Y., Properties of cyclic 3'5'-nucleotide phosphodiesterase from rat brain. Biochemistry 6 (1967), 1079-1087.
78. Clement-Cormier, Y.C., Kebebian, J.W., Petzold, G.L., Greengard, P., Dopamine-sensitive adenylate cyclase in mammalian brain: a possible site of action of antipsychotic drugs. Proc.Nat. Acad.Sci. USA 71 (1974), 1113-1117.
79. Clement-Cormier, Y.C., Parrish, R.G., Petzold, G.L., Kebebian, J.W., Greengard, P., Characterization of a dopamine-sensitive adenylate cyclase in the rat caudate nucleus. J.Neurochem. 25 (1975), 143-150.
80. Coceani, F., Pulisi, L., Lavers, B., Prostaglandins and neuronal activity in spinal cord and cuneate nucleus. N.Y.Acad.Sci. 180 (1971), 289.

81. Cohn, L., Cohn, M., Taylor, F.H., Norepinephrine.
An antagonist of dibutyryl cyclic AMP in the
regulation of narcosis in the rat. Les Commun.
Chem.Pathol.Pharmacol. 7 (1974), 687-699.
82. Connelly, C.M., Recovery processes an metabolism
of nerve, Biophysical Science - A Study Program,
pp. 475-484. Wiley & Sons, Inc., New York (1959).
83. Conway, E.J., Kernan, R.P., Zadunaisky, J.A., The
sodium pump in skeletal muscle in relation to
energy barriers. J.Physiol. (Lond.) 155 (1961),
263-279.
84. Cooke, J.D., Quastel, D.M.J., The specific effect of
potassium on transmitter release by motor nerve
terminals and its inhibition by calcium. J.Physiol.
(Lond.) 228 (1973), 435-458.
85. Coombs, J.S., Eccles, J.C., Fatt, P., The elec-
trical properties of the motoneurone membrane.
J.Physiol. (Lond.) 130 (1955), 291-325.
86. Coombs, J.S., Eccles, J.C., Fatt, P., The specific
ionic conductances and the ionic movements
across the motoneural membrane that produce the
inhibitory postsynaptic potential. J.Physiol.
(Lond.) 130 (1955), 326-373.
87. Cornwall, M.C., Peterson, D.F., Kunze, D.L., Walker,
J.L., Brown, A.M., Intracellular potassium and
chloride activities measured with liquid ion
exchanger microelectrodes. Brain Res. 23 (1970),
433-436.

88. Crain, S.M., Pollack, E.D., Restorative effects of cyclic AMP on complex bioelectric activities of cultured fetal rodent CNS tissues after acute Ca^{++} -deprivation. J.Neurobiol. 4 (1973), 321-342.
89. Cunnings, J.T., McIlwain, H., Electrical pulses and the potassium and other ions of isolated cerebral tissues. Biochem.J. 79 (1961), 330.
90. Curtis, D.R., Microelectrophoresis.
In: Physical Techniques in Biological Research
V. Ed. W.L. Nastuk. Academic Press (1964),
New York, pp. 144-190.
91. Daly, J.W., Huang, M., Shimizu, H., Regulation of cyclic AMP levels in brain tissue. Adv.Cycl. Nucl.Res. 1 (1972), 375-387.
92. Daly, W., Cyclic adenosine 3'5' monophosphate role in the physiology and pharmacology of the central nervous system. Biochem.Pharmacol. 24 (1975), 159-164.
93. Dawson, R.G., McGaugh, J.L., Drug facilitation of learning and memory. In: The Physiological Basis of Memory. Ed. Deutsch, J.A. (1973) Academic Press, New York. 79-104.
94. Dee, E., Kernan, R.P., Energetics of sodium transport in *Rana pipiens*. J.Physiol. (Lond.) 165 (1963), 550-558.

95. Del Castillo, J., Katz, B., Biophysical aspects of neuromuscular transmission. Prog.Biophys. 124 (1954), 121-170.
96. Dennis, M.J., Gerschenfeld, H.M., Some physiological properties of identified mammalian neurological cells. J.Physiol. (Lond.) 203 (1969), 211-222.
97. Dhalla, N.S., Sulakhe, P.V., Adenyl cyclase activity and calcium transport in cardiac sarcotubular membranes. Adv.Cycl.Nucl.Res. 2 (1973), Abs.
98. Dichter, M., Herman, C.J., Selzer, Silent cells during interictal discharges and seizures in hippocampal penicilline foci. Evidence for the role of extracellular K^+ in the transition from the interictal state to seizures. Brain Res. 48 (1972), 172-183.
99. Dondey, M., Snider, R.S., Slow potential shifts following cerebellar stimulation. Fed.Proceeds 13 (1954), 37.
100. Dowd, F., Schwartz, A., The presence of cyclic AMP-stimulated protein kinase substrates and evidence for endogenous protein kinase activity in various $Na^+K^+ATPase$ preparations from brain, heart, kidney. J.Molec.Cell.Cardiol. 7 (1975), 483-498.

101. Duffy, M.J., Wong, J., Powell, D., Stimulation of adenylate cyclase activity in different areas of human brain by substance P. Neuropharmacol. 14 (1975), 615-618.
102. Dunham, E.T., Glynn, I.M., Adenosine triphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. J.Physiol. (Lond.) 156 (1961), 274-293.
103. Durell, A., Sodium and potassium metabolism, Lithium salts and affective disorders. In: Factors in Depression. Ed.Kline, I.S., Rowen, P. (1974). N.Y.
104. Eccles, J.C., The Ferrier Lecture. The nature of central inhibition. Proc.Roy.Soc. Ser.B 153 (1961), 445-476.
105. Eccles, J.C., The physiology of synapses. Springer, Berlin (1964).
106. Eccles, J.C., Cerebral synaptic mechanisms. In: Brain and Concious Experience. J.C. Eccles, ed. Springer (1966), 24-58. Berlin, Heidelberg, New York.
107. Eccles, J.C., Krnjević, K., Potential changes recorded inside primary afferent fibres within the spinal cord. J.Physiol. (Lond.) 149 (1959), 250-273.

108. Edwards, C., Nahorski, S.R., Rogers, K.J., In vivo changes of cerebral cyclic adenosine 3'5'monophosphate induced by biochemic amines: association with phosphorylase activation. Neurochemistry 22 (1974), 565-572.
109. Eisenmann, G., Rudin, D.O., Casby, J.U., Glass electrode for measuring sodium ion. Science 126 (1957), 831-834.
110. Eisenmann, G., Theory of membrane electrode potentials: an examination of the parameters determining the selectivity of solid and liquid ion exchangers and of neutral ionsequestering molecules. In: Ion Selective Electrodes. Ed. R.A. Durst. Nat. Bureau Stand.Publ. (1969) Washington, 1-56.
111. Escueta, A.V., Appel, S.H., The effects of electrically induced seizures on potassium transport within isolated nerve terminals. Neurology 20 (1970), 392.
112. Essig, A., Energetics of active transport processes. Biophys.J. 15 (1975), 651-666.
113. Eyzaguirre, C., Kuffler, S.W., Processes of excitation in the dendrites and in the soma of single isolated nerve cells of the lobster and crayfish. J.Gen.Physiol. 39 (1955), 87-119.
114. Falk, G., Fatt, P., Linear electrical properties of striated muscle fibres observed with intracellular electrodes. Proc.Roy.Soc., Ser.B 160 (1964), 69-123.

115. Ferendelli, J.A., Kinscherf, D.A., Kipnis, D.M.,
Effects of amphetamine, chlorpromazine, reser-
pine on cyclic GMP and cyclic AMP levels in
mouse cerebellum. Biochem.Biophys.Res.Commun.
46 (1972), 2214-2220.
116. Ferendelli, J.A., Chang, M.M., Kinscherf, D.A.,
Elevation of cyclic AMP levels in central nerv-
ous system by excitatory and inhibitory amino
acids. J.Neurochem. 22 (1974), 535-540.
117. Ferguson, D.R., Price, R.H., The actions of cyclic
nucleotides on the toad bladder. Adv.Cycl.
Nucl.Res. 1 (1972), 111-119.
118. Fertziger, A.P., Rank, J.B., Potassium accumula-
tion in interstitial space during epileptiform
seizures. Exp.Neurol. 26 (1970), 571-585.
119. Festoff, B.W., Appel, S.H., Effect of diphenyl-
hydantoin on synaptosome sodium-potassium-
ATPase. J.Clin.Invest. 47 (1968), 2752-2778.
120. Fisher, R.S., Pedley, T.A., Moody, W.J., Prince,
D.A., The role of extracellular potassium in
hippocampal epilepsy. Arch.Neurol. 33 (1976),
76-83.
121. Flamm, E.S., Kim, J., Lin, J., Ransohoff, J.,
Phosphodiesterase inhibitors and cerebral vaso-
spasm. Arch.Neurol. 32 (1975), 569-571.
122. Folbergrová, J., Cyclic 3'5'monophosphate in cere-
bral cortex during homocysteine convulsions and
their prevention by sodium phenobarbital. Brain
Res. 92 (1975), 165-169.

123. Florendo, N.T., Barnett, R.J., Graudard, P.,
Cyclic 3'5' nucleotide phosphodiesterase:
Cytochemical localization in cerebral cortex.
Science 173 (1971), 745-747.
124. Forn, J., Krishna, G., Effect of norepinephrine,
histamine and other drugs on cyclic 3'5'-AMP
formation in brain slices of various animal
species. Pharmacol. 5 (1971), 193-202.
125. Frankenhaeuser, B., Hodgkin, A.L., The after-
effects of impulses in the giant nerve fibres
of Loligo. J.Physiol. (Lond.) 131 (1956),
341-376.
126. Frankenhaeuser, B., Hodgkin, A.L., The action of
calcium on the electrical properties of squid
axons. J.Physiol. 137 (1957), 217-243.
127. Freygang, Jr., W.H., Landau, W.M., Some relations
between resistivity and electrical activity
in cerebral cortex of cat. J.Cell.Comp.Physiol.
45 (1955), 377-392.
128. Futamachi, K.J., Mutani, R., Prince, D.A., Potas-
sium activity in rabbit cortex. Brain Res. 75
(1974), 5-25.
129. Futamachi, K.J., Pedley, T.A., Glial cells and
extracellular potassium: their relationship in
mammalian cortex. Brain Res. 109 (1976), 311-
322.

130. Gaballah, S., Popoff, C., Sooknanadan, G., Subcellular distribution and developmental changes in brain cyclic AMP dependent protein kinase. Adv.Cycl. Nucl.Res. 1 (1973), Abs.
131. Garelis, E., Neff, N.H., Cyclic adenosine monophosphate:selective increase in caudate nucleus after administration of L-Dopa. Science 183 (1973), 532-533.
- 132a. Gilman, A.G., Regulation of cyclic AMP metabolism in cultured cells of the nervous system. Adv.Cycl. Nucl.Res. 1 (1972), 389-409.
132. Gaugner, D., Kaiser, G., Quiring, K., Palm, D., The β -adrenergic receptor-adenyl-cyclase system of rat reticulocytes. Effects of adrenergic stimulants and inhibitors. Nauyn.Schmiedeb. Arch.Pharmacol. 298 (1975), 379-398.
133. Giorguieff, M.F., Le Floch, M.L., Westfall, T., Glowinski, J., Besson, M.J., Effects of cholinergic agonists and antagonists on ^3H -DA release from cat caudate nucleus (in vivo) and rat striatal slices (in vitro). Exp.Brain Res. 23 Suppl. (1975), Abs. 147.
134. Glötzner, F., Grüsser, O.J., Membranpotential und Entladungsfolgen corticaler Zellen, EEG und corticales DC-Potential bei generalisierten Krampfanfällen. Arch.Psychiat.Nervenkrankh. 210 (1968), 313-339.
135. Glötzner, F.L., Membrane properties of neuroglia in epileptogenic gliosis. Brain Res. 55 (1973), 159-171.

136. Glynn, I.M., Activation of adenosinetriphosphatase activity in a cell membrane by external potassium and internal sodium. J.Physiol. 160 (1962), 18-19.
- 137a. Goldberg, N.D., Lust, W.D., O'Dea, R.F., Wei, S., O'Toole, A.G., A role of cyclic nucleotides in brain metabolism. Adv.Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 67-85.
- 137b. Goldberg, N.D., O'Dea, R.F., Haddox, M.K., Cyclic GMP. Adv.Cycl.Nucl.Pes. 3 (1973), 155-223.
138. Godfraind, J.M., Puman, R., Cyclic AMP and nor-adrenaline iontophoretic release on rat cerebellar Purkinje neurons. Arch.Int.Pharmacodyn.Ther. 196 (1972), 131-132.
139. Gordon, E.E., de Hartog, M., The relationship between cell membrane potassium ion transport and glycolysis. The effect of ethacrynic acid. J.Gen.Physiol. 54 (1969), 650-663.
140. Greengard, P., Straub, R.W., Metabolic studies on the hyperpolarisation following activity in mammalian nonmyelinated nerve fibres. J.Physiol. (Lond.) 161 (1962), 414-423.
141. Greengard, P., Kuo, J.F., On the mechanism of action of cyclic AMP. Adv.Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 287-306.
142. Greengard, P., Costa, E., Role of cyclic AMP in cell function. Raven Press, New York (1970).
143. Greengard, P., On the reactivity and mechanism of action of cyclic nucleotides. Ann.N.Y.Acad.Sci. 185 (1971), 18-26.

144. Greengard, P., McAfee, D.A., Kebabian, J.W., On the mechanism of action of cyclic AMP and its role in synaptic transmission. Adv.Cyc.Nucl.Res. 1 (1972), 337-355.
145. Greengard, P., Paoletti, R. Robison, G.A., Advances in cyclic nucleotide research Vol.1. Physiology and Pharmacology of cyclic AMP. Raven Press, New York (1972).
146. Greengard, P., Nathanson, J.A., Kebabian, J.W., Dopamine-, octopamine-, and serotonin-sensitive adenylate cyclase: possible receptors in aminergic neurotransmission. In: Frontiers in Catecholamine Research, Ed. E.Usdin & S.H.Snyder (1973), Pergamon New York, 377-382.
147. Greengard, P., Kebabian, J.W., Role of cyclic AMP in synaptic transmission in the mammalian peripheral nervous system. Fed.Proceed. 33 (1974), 1059-1067.
148. Grossman, R.G., Hampton, T.L., Depolarization of cortical glial cells during electrocortical activity. Brain Res. 11 (1968), 316-324.
149. Grossman, R.G., Whiteside, L., Hampton, T.L., The time course of evoked depolarization of cortical glial cells. Brain Res. 14 (1969), 401-415.
150. Grundfest, H., Electrical inexcitability of the synapses and some consequences in the central nervous system. Physiol.Rev. 37 (1957), 337-361.

151. Grundfest, H., Kao, C.Y., Altamirano, M., Bioelectric effects of ions microinjected into the giant axon of *Loligo*. J.Gen.Physiol. 38 (1955), 245-282.
152. Guidotti, A., Costa, E., Involvement of adenosine 3'5'monophosphate in the activation of tyrosine hydroxylase elicited by drugs. Science 176 (1973), 902.
153. Hablitz, J.J., Operant conditioning and slow potential changes from monkey cortex. Electroenceph. Clin.Neurophysiol. 34 (1973), 399-408.
154. Haslewood, C.F., Pumps or no pumps. Science 177 (1972), 815.
155. Hechter, O., Nobel Symposium 8, Pathogenesis of Diabetes Mellitus. Ed. Cerasi, E., Luft, R. (1969), Stockholm, 336.
156. Heindel, J.J., Cushman, S.W., Jeanrenaud, B., Modification of energy-requiring processes during lipolysis. Adv.Cyc.Nucl.Pes. 2 (1973), Abs.
157. Heinemann, U., Lux, H.D., Effects of diphenylhydantoin on extracellular $[K^+]_o$ in cat cortex. Elektroenceph.Clin.Neurophysiol. 34 (1975), 735.
158. Heinemann, U., Lux, H.D., Undershoots following stimulus-induced rises of extracellular potassium concentration in cerebral cortex of cat. Brain Res. 93 (1975), 63-76.

159. Henn, F.A., Haljamäe, H., Hamberger, A., Glial cell function: active control of extracellular K^+ concentration. Brain Res. 43 (1972), 437-443.
160. Herman, Z.S., Behavioural effects of dibutyryl cyclic 3'5'AMP. Noradrenaline and cyclic 3'5'AMP in rats. Neuropharmacol. 12 (1973), 704-705.
161. den Hertog, A., Some further observations on the electrogenic sodium pump in non-myelinated nerve fibres. J.Physiol. 231 (1973), 493-509.
162. Herz, A., Ziedlgänsberger, W., Färber, G., Micro-electricphoretic studies concerning the spread of glutamic acid and GABA in brain tissue. Exp. Brain Res. 9 (1969), 221-235.
163. Hille, B., Charges and potential at the nerve surface. Divalent ions and pH. J.Gen.Physiol. 51 (1968), 221.
164. Hinke, A.M., The measurement of sodium and potassium activities in the squid axon by means of the cation selective glass microelectrodes. J.Physiol. 156 (1961), 314-335.
165. Hník, P., Vyskocil, F., Kriz, N., Holas, M., Work-induced increase of extracellular potassium concentration in muscle measured by ion-specific electrodes. Brain Res. 40 (1972), 559-562.
166. Hodgkin, L.A., Huxley, A.F., Katz, B., Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. J.Physiol. 116 (1952).

167. Hodgkin, A.L., Keynes, R.D., The mobility and diffusion coefficient of potassium in giant axons from Sepia. J.Physiol. (Lond) 119 (1953) 513-528.
168. Hodgkin, A.L., Keynes, R.D., Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo. J.Physiol.(Lond.) 128 (1955), 28-60.
169. Hoffer, B.J., Siggins, G.R., Bloom, F.E., Response of single cerebellar Purkinje (P) cells to microelectrophoresis of norepinephrine (NE) and serotonin (5-HT). Fed.Proc. 28 (1969), 443 Abs.
170. Hoffer, B.J., Neff, N.H., Siggins, G.R., Microiontophoretic release of norepinephrine from micro-pipettes. Neuropharmacol. 10 (1971), 175-180.
171. Hoffer, B.J., Siggins, G.R., Bloom, F.E., Studies on norepinephrine-containing afferents to Purkinje cells of rat cerebellum. II. Sensitivity of Purkinje cells to norepinephrine and related substances administered by microiontophoresis. Brain Res. 25 (1971), 523.
172. Hoffer, B.J., Siggins, G.R., Steiner, A.L., Wender, H.J., Adenosine 3'5'monophosphate is localized in cerebellar neurons: immunofluorescence evidence. Science 177 (1972), 436-438.

173. Holmes, O., Effects of pH, changes in potassium concentration and metabolic inhibitors on the afterpotentials of mammalian non-medullated nerve fibres. Arch.Int.Physiol.Biochim. 70 (1962), 211-245.
174. Horton, E.W., Prostaglandins. IX. the nervous system. In: Monographs on Endocrinology 7 (1974), Springer, New York, 117-149.
175. Hoskins, B., Vroom, F.Q., Jarrell, M.A., Hyperkalemic periodic paralysis. Arch.Neurol. 32 (1975), 519-523.
176. Hotson, J.R., Sybert, G.W., Ward, A.A., Jr., Extracellular potassium concentration changes during propagated seizures in neocortex. Exp. Neurol. 38 (1973), 20-26.
177. Hubbard, J.I., Willis, W.D., The effect of depolarisation of motor nerve terminals upon the release of transmitter by nerve impulses. J.Physiol. 194 (1968), 381-405.
178. von Hungen, K., Roberts, S., Hill, D.F., Interactions between lysergic acid diethylamide and dopamine-sensitive adenylate cyclase systems in rat brain. Brain Res. 94 (1975), 57-66.
179. Isaac, P., Grahame-Smith, D.G., Adenyl cyclase and cyclic AMP in subcellular fractions of rat brain. Adv.Cyc.Nucl.Res. 1 (1973), Abs.

180. Isenberg, G., Trautwein, W., Temperature sensitivity of outward current in cardiac Purkinje fibers. Evidence for electrogenicity of active transport. Pflügers Arch. 358 (1975), 225-234.
181. Iwango, P., Enz, A., Experientia 24 (1973), 1067.
182. Iwatsubo, K., Clouet, D.H., Dopamine-sensitive adenylate cyclase of the caudate nucleus of rats treated with morphine or haloperidol. Biochem. Pharmacol. 24 (1975), 1499-1504.
183. Izquierdo, I., Nasello, A.G., Pharmacological evidence that hippocampal facilitation, posttetanic potentiation and seizures may be due to a common mechanism. Exp.Neurol. 27 (1970), 399-409.
184. Izquierdo, I., The hippocampus and learning. Prog. Neurobiol. 5 (1975), 37-75.
185. Jard, S., Premont, J., Benda, P., Adenylate cyclase, phosphodiesterases and protein kinase of rat glial cells in culture. FEBS Letters 26 (1972), 344-348.
186. Joanny, P., Hillmann, H., Further studies on the potassium and sodium concentrations of mammalian cerebral slices in vitro. J.Neurochem. 11 (1964), 413.

187. Johnston, G.A.R., Balcar, V.J., High affinity uptake of cyclic AMP in rat brain slices. Brain Res. 59 (1973), 451-453.
188. Kahn, N., Magni, F., Pillai, R.V., Depolarization of optic fiber endings in the lateral geniculate body. Arch. Ital. Biol. 105 (1967), 573-582.
189. Kakiuchi, S., Rall, T.W., The influence of chemical agents on the accumulation of adenosine 3'5' phosphate in slices of rabbit cerebellum. Mol.Pharmacol. 4 (1968), 367-378.
190. Kakiuchi, S., Yamazaki, R., Teshima, Y., Regulation of brain phosphodiesterase activity: Ca^{++} plus Mg^{++} -dependent phosphodiesterase and its activating factor from rat brain. Adv.Cycl.Nucl.Res. 1 (1972) 455-477.
191. Kamino, K., Inouye, K., Inouye, A., Potassium induced swelling of nerve endings particles by light scattering measurement. Biochim.Biophys.Acta
- 191a. Karl, R.C., Zawulich, W.S., Ferrendelli, J.A., Matschinsky, F.M., Role of Ca^{2+} and cyclic adenosine 3'5'monophosphate in insulin release induced invitro by divalent cation ionophore. J.Biol. Chem. 250 (1975), 4575-4579.
192. Katz, B., Nerve, Muscle and Synapse. McGraw Hill, New York (1966).

193. Katz, B., Miledi, R., The role fo calcium in neuro-muscular facilitation. J.Physiol. (Lond.) 195 (1968), 481-492.
194. Kayama, Y., Evoked potentials of the central visual system during and after hypoxia in cats. Elec-troenceph.Clin.Neurophysiol. 36 (1974), 619-628.
195. Kebabbian, J.W., Greengard, P., Dopamine sensitive adenylcyclase. Possible role in synaptic trans-mission. Science 174 (1971), 1346.
196. Keeseey, J.C., Wallgren, H., McIlwain, H., The sodi-um, potassium and chloride of cerebral tissues: maintainance change on stimulation and subse-quent recovery. Biochem.J. 95 (1965), 289.
197. Kehoe, J.S., Ascher, P., Re-evaluation of the syn-aptic activation of an electrogenic sodium pump. Nature (Lond.) 225 (1970), 820-823.
198. Kelly, J.P., von Essen, D.C., Cell structure and function in the visual cortex of the cat. J.Phy-siol. 238 (1974), 515-547.
199. Kerkut, G.A., Ridge, R.M.A.P., The effect of tempe-rature changes on the activity of the neurones of the snail *Helix aspersa*. Comp.Biochem.Physiol. 5 (1962), 283-295.
200. Kerkut, G.A., Thomas, R.C., The effect of anion in-jection and changes in the external potassium and chloride concentration on the reversal potentials of the IPSP and acetylcholine. Comp.Biochem.Phy-siol. 11 (1964), 199-213.

201. Kerkut, G.A., Thomas, R.C., An electrogenic sodium pump in snail nerve cells. Comp.Biochem.Physiol. 14 (1965), 167-183.
202. Kerkut, G.A., Brown, L.C., Walker, R.J., Postsynaptic stimulation of the electrogenic sodium pump. Life Sci. 8 (1969), 297-300.
203. Kerkut, G.A., Brown, L.C., Walker, P.J., Cholinergic stimulation of the electrogenic sodium pump. Nature (Lond.) 223 (1969), 864-865.
204. Kerkut, G.A., York, B., The oxygen sensitivity of the electrogenic sodium pump in snail neurones. Comp.Biochem.Physiol. 28 (1969), 1125-1134.
205. Kety, S.S., Norepinephrine in the central nervous system and its correlations with behavior, in: Brain and Human Behavior, Ed.: A.G.Karczmar, J.C. Eccles (1972), Springer, Berlin, New York, Hd.
206. Key, B.J., Electrocortical changes induced by perfusion of catecholamines into the brainstem reticular formation. Neuropharmacol. 14 (1975), 41-52.
207. Keynes, R.D., The ionic movements during nervous activity. J.Physiol. (Lond.) 114 (1951), 119-150.
208. Keynes, R.D., Swan, R.C., The permeability of frog muscle fibres to lithium ions. J.Physiol. (Lond.) 147 (1959), 626-638.

209. Khuri, R.N., Agullian, S.K., Wise, W.M., Potassium in the rat kidney proximal tubules in situ. Determination by K^+ selective liquid ion exchange microelectrodes. Pflügers Arch. 322 (1971), 39.
210. Kilbert, L.H., Jr., Foà, P.P., The role of cyclic AMP in insulin secretion. Adv.Cycl.Nucl.Res. 2 (1973), Abs.
211. Kjallquist, A., Nardini, M., Siesjö, B.K., The regulation of extra- and intracellular acid base parameters in the rat brain during hyper- and hypocapnia. J.Act.Physiol.Scand. 78 (1969), 85-93.
212. Klaus, W., Der Elektrolytstoffwechsel von Hirngewebe und seine Beeinflussung durch Narcotica. Springer, Berlin (1967).
213. Klyce, S.D., Transport of Na, Cl, and water by the rabbit corneal epithelium at resting potential. Amer.J.Physiol. 228 (1975), 1446-1452.
214. Kobayashi, H., Libet, B., Generation of slow post-synaptic potentials without increases in ionic conductance. Proc.Nat.Acad.Sci. (USA) 60 (1968), 1304-1311.
215. Kobayashi, H., Libet, N.B., Actions of noradrenaline and acetylcholine on sympathetic ganglion cells. J.Physiol. (Lond.) 208 (1970), 385-414.

216. Koike, H., Mano, N., Okada, Y., Oshima, T., Activities of the sodium pump in cat pyramidal tract cells investigated with intracellular injection of sodium ions. Exp. Brain Res. 14 (1972), 449-503.
217. Koketsu, K., Intracellular potential changes of primary afferent nerve fibres in spinal cords of cats. J. Neurophysiol. 19 (1956), 375-392.
218. Kostyuk, P.G., Sorokina, Z.A., Kholodova, Yu., D., Measurements of activity of hydrogen, potassium and sodium ions in striated muscle fibres and nerve cells. Glass Microelectrodes, ed. Lavallee, M. et al., New York, Wiley (1969), 322-348.
219. Kostyuk, P.G., Krishtal, O.A., Doroshenko, P.A., Calcium currents in snail neurones. Pflügers Arch. 348 (1974), 83.
220. Kravitz, E.A., Kuffler, S.W., Potter, D.D., Gamma-aminobutyric acid and other blocking compounds in Crustacea, their relative concentrations in separated motor and inhibitory axons. J. Neurophysiol. (Lond.) 26 (1962), 739-751.
221. Krebs, H.A., Eggleston, L.V., Ferner, C., In vitro measurements of the turnover rate of potassium in brain and retina. Biochem. J. 48 (1951), 530.
- 221a. Kukes, G., de Vellis, J., Elul, R., A linked active transport system for Na^+ and K^+ in a glial cell line. Brain Res. 104 (1976), 93-105.

222. Kregenow, F.M., Hoffman, J.F., Some kinetic and metabolic characteristics of calcium-induced potassium transport in human red cells. J.Gen.Physiol. 60 (1972), 406-429.
223. Krishna, G., Forn, J., Voigt, K., Paul, M., Gessa, G.L., Dynamic aspects of neurohormonal control of cyclic 3',5'-AMP synthesis in brain. Adv. Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 155-167.
224. Krivanek, J., Bureš, J., Ion shifts during Leão's spreading cortical depression. Physiol.Bohemoslov. 9 (1960), 494-503.
225. Krivanek, J., McGaugh, J.L., Effects of pentylene-tetrazol on memory storage in mice. Psychopharmacol. 12 (1968), 303-321.
226. Kříž, N., Syková, E., Ujec, E., Vyklický, L., Changes of extracellular potassium concentration induced by neuronal activity in the spinal cord of the cat. J.Physiol. (Lond.) 238 (1974), 1-15.
227. Kříž, N., Syková, E., Vyklický, L., Extracellular potassium changes in the spinal cord of the cat and relation to the slow potentials active transport and impulse transmission. J.Physiol. 249 (1975), 1617.
228. Krnjević, K., Schwartz, S., Some properties of unresponsive cells in cerebral cortex. Exp.Brain Res. 3 (1967), 306-319.
229. Krnjević, K., Chemical nature of synaptic transmission in vertebrates. Physiol.Rev. 54 (1974), 418-538.

230. Krnjević, K., Morris, M.E., Extracellular K^+ activity and slow potential changes in spinal cord and medulla. Can.J.Physiol.Pharmacol. 50 (1972), 1214-1217.
231. Krnjević, K., Morris, M.E., Strophantidin effects on extracellular K^+ and electrogenic pumping in the cuneatus nucleus. J.Physiol. 250 (1975), 36P.
232. Krueger, B.K., Forn, J., Greengard, P., Dopamine-sensitive adenylate cyclase and protein phosphorylation in the rat caudate nucleus. Pre- and Postsynaptic Receptors. Ed. Usdin, E., Bunney, W.E., Jr., (1975) Dekker New York 123-147.
233. Kuba, K., Koketsu, K., Ionic mechanism of the slow excitatory postsynaptic potential in bullfrog sympathetic ganglion cells. Brain Res. 81 (1974), 338-342.
234. Kuffler, S.W., Potter, D.D., Glia in the leech central nervous system: physiological properties and neuron-glia relationship. J.Neurophysiol. 27 (1964), 290-320.
235. Kuffler, S.W., Neuroglial cells: physiological properties and a potassium mediated effect of neuronal activity on the glial membrane potential. Proc.Roy.Soc. (Lond.) B 168 (1967), 1-21.
236. Kunze, D.L., Brown, A.M., Internal potassium and chloride activities and the effects of acetylcholine on identifiable *Aplysia* neurones. Nature 229 (1971), 229-231.

237. Kuo, J.F., Sanes, J., Greengard, P., Guanosine 3'5'-monophosphate-dependent protein kinases. Fed.Proc. 29 (1970), 601.
238. Kürzinger, K., Stadtkus, C., Hamprecht, B., ATP-ase activities in cultrues of cells derived from the nervous system. Exp.Brain Res. 23 (1975), Suppl.
239. Kuroda, Y., Kobayashi, K., Effects of adensine and adenine nucleotides on the postsynaptic potential and on the formation of cyclic adenosine 3'5'-monophosphate from radioactive adenosine triphosphate in Guinea pig olfactory cortex slices. Proc.Japan.Acad. 51 (1975), 495-500.
240. Kuzmin, O.B., Smirnov, P.A., Influence of catecholamines on the activity of the microsomal (Na^+ - K^+)-activated ATPase of the rabbits kidneys. Farmakol.Toxikologiya 38 (1975), 320-323.
241. Kurzmin, O.B., Smirnov, P.A., Stimulation by cyclic adenosine 3'5'monophosphate of Na^+K^+ activated ATPase from rabbit kidney. Vosprosy Midizinskoj Chimii 21 (1975), 406-408.
242. Lake, N., Jordan, L.M., Failure to confirm cyclic AMP as second messenger for norepinephrine in rat cerebellum. Science 183 (1974), 663-664.
243. Lal, S., Christian, G.D., Response characteristics of the orion potassium ion selective electrode. Analytical Letters 3 (1970), 11-15.

244. Langan, T.A., Phosphorylation of histones in vivo under the control of cyclic AMP and hormones. Adv.Biochem.Psychopharm. 3 (1970), 307-323.
- 244a. Laudan, E.M., The interaction of presynaptic polarization with calcium in modifying spontaneous transmitter release from mammalian motor nerve terminas. J.Physiol. 203 (1969).
- 244b. Leão, A.A.P., Spreading depression of activity in cerebral cortex. J.Neurophysiol. 7 (1944), 359-390.
245. Ledig, M., Ciesielski-Treska, J., Cam, Y., Montagnon, D., Mandel, P., ATPase activity of neuroblastoma cells in culture. J.Neurochem. 25 (1975), 635-640.
246. Lefkowitz, R.J., Catecholamine stimulated Myocardial adenylate cyclase: effects of nucleotides. J.Molec.Cell.Cardiol. 7 (1975), 237-248.
247. Lev, A.A., Determination of activity and activity coefficients of potassium and sodium ions in frog muscle fibres. Nature (Lond.) 201 (1964), 1132-1134.
248. Levi, H., Ussing, H.H., The exchange of sodium and chloride ions across the fibre membrane of the isolated frog sartorius. Acta Physiol.Scand. 16 (1948), 232-249.
249. Lewy, A.J., Seiden, L.S., Operant behaviour changes norepinephrine metabolism in rat brain. Science 175 (1972), 454.

250. Lockwood, A.P.M., "Ringer" solutions and some notes on the physiological basis of their ionic composition. Comp. Biochem. Physiol. 2 (1961), 241-289.
251. Lockwood, R.H., Lum, B.K.B., Effects of adrenergic agonists and antagonists on potassium metabolism. J.Pharmacol.Exp.Ther. 159 (1974), 119-129.
252. Logan, J.G., O'Donovan, D.J., The effects of nor-adrenaline, 5' hydroxytryptamine and dopamine on synaptic membrane ATPase. J.Physiol. 250 (1975), 47 P.
253. Lothman, E., LaManna, J., Cordingley, G., Rosenthal, M., Somjen, G., Responses of electrical potential potassium levels, and oxidative metabolic activity of the cerebral neocortex of cats. Brain Res. 88 (1975), 15-36.
254. Lothman, E., Somjen, G., Extracellular potassium activity, intracellular and extracellular potential responses in the spinal cord. J.Physiol. (Lond.), in press.
255. Lundholm, L., Mohme-Lundholm, E., The action of adrenaline on carbohydrate metabolism in relation to some of its pharmacodynamic effects. Adrenergic Mechanisms: Ciba Foundation Symposium, ed. Vane, J.R. et al., London: Churchill (1960).
256. Lux, H.D., Kaliumaktivität im Hirngewebe. Untersuchungen zum Krampfproblem. Mitt.Max-Planck-Ges. (1973), 34-52.

257. Lux, H.D., Neher, E., The equilibration time course of $[K^+]_o$ in cat cortex. Exp.Brain Res. 17 (1973), 190-205.
258. Lux, H.D., Eckert, R., Net outward current "inactivation" and extracellular K^+ accumulation in a bursting pacemaker neuron. Pflügers Arch. 147 (1974), Suppl.
259. Lux, H.D., The kinetics of extracellular potassium: relation to epileptogenesis. Epilepsia 15 (1974), 375-393.
260. Lux, H.D., Fast recording ion specific electrodes: their use in pharmacological studies in the CNS. Neuropharmacology 13 (1974), 509-517.
261. Maas, J.W., Biogenic amines and depression. Arch. Gen.Psychiatry 32 (1975), 1357-1361.
262. MacDonald, I.A., Differentiation of fluoride-stimulated and non-fluoride-stimulated components of beef brain cortex adenylate cyclase by calcium ions, EGTA and triton X-100. Biochim.Biophys.Acta 197 (1975), 244-253.
263. Marchbanks, R.M., Ion transport and metabolism in brain. In: Membrane and Ion Transport 2 (1970), London.
264. Marmor, M.F., The membrane of giant molluscan neurons: electrophysiologic properties and the origin of the resting potential. Prog.Neurobiol. 5 (1975), 169-195.

265. Marguerat, J., de Sousa, R.C., La^{+++} stimulated Na^+ transport in frog skin: independence from cAMP. Experientia 31 (1975), 712.
266. Maruyama, S., Kawasaki, T., Synergism between γ -aminobutyric acid and butyrophenones administered microelectrophoretically in the Purkinje cells of the rat cerebellum. Jap.J.Pharmacol. 25 (1975), 209-213.
267. McAfee, D.A., Schorderet, M., Greengard, P., Adenosine 3'5'-monophosphate in nervous tissue: increase associated with synaptic transmission. Science 171 (1971), 1156-1158.
268. McGaugh, J.L., Gold, P.E., Van Buskirk, R., Haycock, J., Modulating influences of hormones and catecholamines on memory storage processes. Prog.Brain Res. 43 (1975), 151-162.
269. McLain, W.C., III, Cole, B.T., Central catechol- and indolamine systems and aggression. Pharmacol. Biochem.Behav. 2 (1974), 132-126.
270. Medzihradsky, F., Sellinger, O.Z., Nandhasri, P.S., Santiago, J.C., Adenosine triphosphatase activity in glial cells and in neuronal perikarya of edematous rat brain. Brain Res. 67 (1974), 133-139.
271. Meech, R.W., Intracellular calcium injection causes increased potassium conductance in Aplysia nerve cells. Comp.Biochem.Physiol. 42A (1972), 493-499.

272. Meech, R.W., Calcium influx induces a post-tetanic hyperpolarization in Aplysia neurones. Comp. Biochem. Physiol. 48A (1974), 387-395.
273. Middendorff, T., Loeschcke, H.H., Approximative calculation of the buffer base, the titration curve, and CO₂-dissociation curve of brain tissue. Pflügers Arch. 349 (1974), 1-8.
274. Moody, W., Futamachi, K., Prince, D.A., Extracellular potassium activity during epileptogenesis. Exp. Neurol. 42 (1974), 248-263.
275. Morel, F., Jard, S., Cyclic AMP and sodium transport in frog skin. Ann. N.Y. Acad. Sci. 185 (1971), 351-362.
276. Moreton, R.B., An investigation of the electrogenic Na-pump in snail neurones, using the constant-field theory. J. Exp. Biol. 51 (1969), 181-201.
277. Mottram, D.R., The effects of noradrenaline depletion on large dense-cored vesicles in sympathetic nerve terminals. Neuropharmacol. 14 (1975), 91-94.
278. Mozsik, G., Tarnok, F., Nagy, L., Vizi, F., Na⁺-K⁺-dependent ATPase and adenyl cyclase systems in the human mucosa. Adv. Cycl. Nucl. Res. 2 (1973).
279. Mukherjee, C., Caron, M.C., Lefkowitz, R.J., Catecholamine-induced subsensitivity of adenylate cyclase associated with loss of β -adrenergic receptor binding sites. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72 (1975), 1945-1959.

280. Mulder, A.H., Snyder, S.H., Potassium-induced release of amino acids from cerebral cortex and spinal cord sclices of the rat. Brain Res. 76 (1974), 297-308.
281. Mulder, A.H., Yamamura, H.I., Kuhar, M.J., Snyder, S.H., Release of acetylcholine from hippocampal slices by potassium depolarization, dependence on high affinity choline uptake. Brain Res. 70 (1974), 372-376.
282. Munson, E.S., Wagman, I.H., Elevation of lidocaine seizure threshold by gallamine in rhesus monkeys. Arch.Neurol. (Chicago) 28 (1973), 329-333.
283. Murad, F., Clinical studies and applications of cyclic nucleotides. Adv.Cyc.Nucl.Res. 3 (1973), 355-383.
284. Mutani, R., Futamachi, K.J., Prince, D.A., Potassium activity in immature cortex. Brain Res. 75 (1974), 27-39.
285. Nahorski, S.R., Rogers, K.J., The role of catecholamines in the action of amphetamine and L-DOPA on cerebral energy metabolism. Neuropharmacol. 14 (1975), 283-290.
286. Nahorski, S.R., Rogers, K.J., The effect of phosphodiesterase inhibitors on the stimulation of cerebral cyclic AMP formation by biogenic amines in vitro and in vivo. Brit.J.Pharmacol. 54 (1975), 272P.

287. Nakajima, S., Takahashi, K., Post-tetanic hyperpolarization and electrogenic Na pump in stretch receptor neurone of crayfish. J.Physiol. 187 (1966), 105-127.
288. Namima, M., Measurements of Na^+K^+ -ATPase in the rat brain - the effect of GABA upon Na^+K^+ -ATPase activity in microsome fraction of the rat brain. Nipon Univ.J.Med. 15 (1973), 225-244.
289. Naylor, G.J., Reid, A.H., Dick, D.A.T., Dick, E.G., A biochemical study of short-cycle manic-depressive psychosis in mental detectives. Brit.J. Psychiat. 128 (1976), 169-180.
290. Neher, E., Lux, H.D., Rapid changes of potassium concentration at the outer surface of exposed single neurons during membrane current flow. J.Gen.Physiol. 61 (1973), 385-399.
291. Newburgh, R.W., Rosenberg, R.N., Effect of nor-epinephrine on glucose metabolism in glioblastoma cells in cell culture. Proc.Nat.Acad.Sci. 69 (1972), 1677-1680.
292. Nguyen Duong, H., Brecht, K., Cyclic AMP and the potassium induced relaxation of arterial smooth muscle. Pflügers Arch.Physiol. Suppl.347 (1974).
293. Nicholls, J.G., Baylor, D.A., Long-lasting hyperpolarization after activity of neurons in leech central nervous system. Science 162 (1968), 279-281.

294. Nishi, S., Koketsu, K., Origin of ganglionic inhibitory postsynaptic potential. Life Sci. 6 (1967), 2049-2055.
295. O'Donnell, J.M., Kovács, T., Szábó, B., Influence of the membrane stabilizer diphenylhydantoin on potassium and sodium movements in skeletal muscle. Pflügers Arch. Physiol. 358 (1975), 275.
296. Olesen, J., The effect of intracarotid epinephrine, norepinephrine, and angiotensin on the regional cerebral blood flow in man. Neurology (Minneap.) 22 (1972), 978-987.
297. Orkand, R.K., Nicholls, J.G., Kuffler, S.W., The effect of nerve impulses on the membrane potential of glial cells in the central nervous system of amphibia. J. Neurophysiol. 28 (1966), 788-806.
298. Orloff, J., Handler, J.S., Vasopressin-like effects of adenosine 3'5'-phosphate and theophylline in the toad bladder. Bioch. Biophys. Res. Com. 5 (1961), 63-66.
299. Otsuka, R., Hassler, R., Über Aufbau und Gliederung der corticalen Sehsphäre bei der Katze. Arch. Psychiat. Nervenkrankh. 203 (1962), 212-234.
300. Palmer, G.C., Schmidt, M.J., Robison, G.A., Development and characteristics of the histamine-induced accumulation of cyclic AMP in the rabbit cerebral cortex. J. Neurochem. 19 (1972), 2251-2256.

301. Palmer, G.L., Sulser, F., Robinson, G.A., Effects of neurohumoral and adrenergic agents on CAMP levels, in various areas of the rat from in vitro. Neuropharmacology 12 (1973), 327.
302. Pape, L., Katzman, R., Response of glia in cat sensorimotor cortex to increased extracellular potassium. Brain Res. 28 (1972), 71-92.
303. Pastan, I., Perlman, R.L., Regulation of gene transcription in *Escherichia coli* by cyclic AMP. Adv. Cycl.Nucl.Res. 1 (1972), 11-15.
304. Peach, U.J., Stimulation of release of adrenal catecholamine by adenosine 3'5' cyclic monophosphate and theophylline in the absence of extracellular Ca^{++} . Proc.Nat.Acad.Sci. 69 (1972), 834-836.
305. Pepe, I.M., Giuditta, A., Cimarra, P., Inhibition of neuronal protein synthesis in the giant fibre system of the squid by a high potassium concentration. J.Neurochem. 24 (1975), 1271-1274.
- 306a. Perkins, J.P., Adenyl cyclase. Adv.Cycl.Nucl.Res. 3 (1973), 1-65.
- 306b. Perkins, J.P., Moore, M.M., Characterization of the adrenergic receptors mediating a rise in cyclic 3'5' adenosine monophosphate in rat cerebral cortex. J.Pharmacol.Exp.Ther. 185 (1973), 371-378.

306. Perumal, P., Gispen, W.H., Wilson, J.E., Glassman, E., Phosphorylation of proteins from the brain of mice subjected to short-term behavioral experiences. Prog.Brain Res. 43 (1975), 201-207.
307. Pfeiffer, C.C., Smythies, J.R., Int.Rev.Neurobiology. Academic Press (1970), New York.
308. Phillis, J.W., The role of calcium in the central effects of biogenic amines. Life Sci. 14 (1974), 1189-1201.
309. Pilar, O., Effect of ACH on pre and postsynaptic elements of a vian ciliary ganglion synapses. Fed.Proc. 28 (1969), 670.
310. Pinsker, H., Kandel, E.R., Synaptic activation of an electrogenic sodium pump. Science 163 (1969), 931-935.
311. Ploda, L.A.R., Wipf, H.-K., Simon, W., Kristalliner Komplex von Kaliumrhodanid mit Valinomycin, einem Antibiotikum hoher Kaliumionenselektivität. EMK-Messungen an künstlichen Membranen. Chimia 22 (1968), 189-191.
312. Premont, J., Benda, P., Jard, S., ^3H norepinephrine binding by rat glial cells in culture: lack of correlation between binding and adenylate cyclase activation. Biochem.Biophys.Act. 381 (1975), 368-376.

313. Prince, D.A., Cortical cellular activities during cyclically occurring interictal epileptiform discharges. Electroenceph.Clin.Neurophysiol. 31 (1971), 469-484.
314. Prince, D.A., Lux, H.D., Neher, E., Measurement of extracellular potassium activity in cat cortex. Brain Res. 50 (1973), 489-495.
315. Rall, T.W., Sattin, A., Factors influencing the accumulation of cyclic AMP in brain tissue. Adv. Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 114-133.
316. Rall, T.W., Gilman, A.G., The role of cyclic AMP in the regulation of cellular processes. Adv. Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 221-323.
317. Rall, T.W., Studies on the formation and metabolism of cyclic AMP in the mammalian central nervous system. Ann.N.Y.Acad.Sci. 185 (1971), 520-529.
318. Rang, H.P., Ritchie, J.M., On the electrogenic sodium pump in mammalian nonmyelinated nerve fibers and its activation by various external cations. J.Physiol. (Lond.) 196 (1968), 183-221.
319. Ransom, B., The behavior of presumed glial cells during seizure discharge in cat cerebral cortex. Brain Research 69 (1974), 83-99.
320. Ransom, B., Goldring, S., Ionic determinants of membrane potential of cells presumed to be glia in cerebral cortex of the cat. J.Neurophysiol. 36 (1973), 855-868.

321. Ransom, B., Goldring, S., Slow hyperpolarization in cells presumed to be glia in cerebral cortex of cat. J.Neurophysiol. 36 (1973), 879-892.
322. Rasmussen, H., Cell communication, calcium ion, and cyclic adenosine monophosphate. Science 170 (1971), 404-412.
323. Rindi, G., Sciorelli, G., Poloni, M., Acaniora, F., The effects of localized diencephalic stimulation with dibutyryl-cyclic 3'5'-AMP and other compounds in satiated rats. Adv.Cycl.Res. 2 (1973), Abs.
324. Ritchie, J.M., Straub, R.W., The hyperpolarisation which follows activity in mammalian non-medullated fibres. J.Physiol. (Lond.) 136 (1957), 80-97.
325. Roberts, S., von Rungen, K., Gill, T.H., McCune, R.W., Catecholamine-sensitive adenylyl cyclase activity in cell-free preparations from rat cerebral cortex. Adv.Cycl.Nucl.Pes. 2 (1973), Abs.
326. Robison, G.A., Butcher, R.W., Sutherland, E.W., Cyclic AMP. Academic Press, New York (1971).
327. Roch, Ph., Kalix, P., Effects of biogenic amines on the concentration of adenosine 3'5'-monophosphate in bovine superior cervical ganglion. Neuropharmacology 14 (1975), 21-30.
328. Roch, P.H., Accumulation of c-AMP in bovine superior cervical ganglia induced by depolarizing media. Experientia 31 (1975), 731.

329. Roch, Ph., Kalix, P., Adenosine 3'5' monophosphate in bovine superior cervical ganglion effect of high extracellular potassium. Biochem.Pharmacol. 24 (1975), 1293-1296.
330. Poisen, F.J., Murphy, R.A., Braden, W.G., Dibutyryl cyclic adenosine monophosphate stimulation of colcemid-inhibited axonal elongation. Science 177 (1972), 809-811.
331. Romero, J.A., Zak, M., Axelrod, J., Beta adrenergic stimulation of pineal N-acetyltransferase adenosine 3'5' cyclic monophosphate stimulates both RNA and protein synthesis. Proc.Nat.Acad.Sci. USA 72 (1975), 2107-2111.
332. Roos, A., Intracellular pH and buffering power of the cat brain. Amer.J.Physiol. 221 (1965), 182-186.
333. Roth, R.H., Walters, J.R., Murrin, L.C., Morgenroth, H., Dopamine neurons: role of impulse flow and presynaptic receptors in the regulation of tyrosine hydroxylase, in: Pre- and Postsynaptic Receptors. Ed.E. Usdin and W.E. Bunney, Jr. (1975), 17-19. Dekker New York.
334. Routtenberg, A., Ehrlich, Y.H., Endogenous phosphorylation of four cerebral cortical membrane proteins: role of cyclic nucleotides, ATP and divalent cations. Brain Res. 92 (1975), 415-430.

335. Rubio, R., Bailey, C., Villar-Palasi, C., Effects of cyclic AMP dependent protein kinase on cardiac actomyosin: increase in Ca^{++} sensitivity and possible phosphorylation of troponin 1. J.Cycl. Nucl.Res. 1 (1975), 143-150.
336. Russell, J.M., Brown, A.M., Active transport of potassium by the giant neuron of the Aplysia abdominal ganglion. J.Gen.Physiol. 60 (1972), 519-533.
337. Ryan, W.L., Durick, M.A., Adenosine 3'5'-monophosphate and N^6 -2-O-dibutyryl-adenosine 3'5'-monophosphate transport in cells. Science 177 (1972), 1002-1003.
338. Sacchi, O., Prigioni, I., Perri, V., Posttetanic afterdischarge in rat sympathetic neurons exposed to low potassium ion concentration. Exp.Brain Res. Suppl. 23 (1975), Abs. 359.
339. Sattin, A., Rall, T.W., The effect of brain extracts on the accumulation of cyclic 3'5' AMP in brain slices. Mol. Pharmacol. 6 (1970), 13.
340. Sato, M., Austin, G.M., Yai, H., Increase in the permeability of postsynaptic membrane to potassium produced by Nembutal. Nature 215 (1967), 1506-1508.

341. Schaefer, A., Unyi, G., Pfeifer, A.K., The effect of a soluble factor and of catecholamines on the activity of adenosine triphosphatase in subcellular fractions of rat brain. Biochem.Pharmacol. 21 (1972), 2289-2294.
342. Schaefer, A., Effect of catecholamines and tranquilizers on the ATPase activity of subcellular fractions in rat brain. Act.Nerv.Super (Praha) 14 (1972), 298.
343. Schatzmann, A.J., Herzglycoside als Hemmstoff für den aktiven Kalium- und Natriumtransport durch die Erythrozytenmembran. Helv.Physiol.Acta 11 (1953), 346-354.
344. Schmidt, R.F., Presynaptic inhibition in the vertebrate central nervous system. Pev.Physiol. 63 (1971), 20-101.
345. Schultz, J., Daly, J.W., Adenosine 3'5'-monophosphate in guinea pig cerebral cortical slices: effects of alpha- and beta-adrenergic agents, histamine, serotonin and adenosine. J.Neurochem. 21 (1973), 573-579.
346. Schultz, K., Daly, J.W., Accumulation of cyclic adenosine 3'5'-monophosphate in cerebral cortical slices from rat and mouse: stimulatory effect of alpha- and beta-adrenergic agents and adenosine. J.Neurochem. 21 (1973), 1319-1326.

347. Schultz, J., Cyclic adenosine 3'5'-monophosphate in guinea pig cerebral cortical slices: studies on the role of adenosine. J.Neurochem. 24 (1975), 1237-1242.
348. Schultz, J., Kleefeld, G., Stimulation of adenosine 3'5'-monophosphate formation in guinea-pig cerebral cortical slices in a calcium free medium. Nauyn.Schmiedeb.Arch.Pharmacol. 287 (1975), 289-296.
349. Schwartz, A., Lindenmayer, G.E., Allen, J.C., The sodium-potassium adenosine triphosphatase: pharmacological, physiological and biochemical aspects. Pharmacol.Rev. 27 (1975), 3-134.
350. Segal, M., Bloom, F.E., The action of norepinephrine in the rat hippocampus. Iontophoretic studies. Brain Res. 72 (1974), 79-97.
351. Shanes, A.M., Effect of temperature on potassium liberation during nerve activity. Fed.Proc. 13 (1954), 384.
352. Shimizu, H., Creveling, C.R., Daly, J.W., Effect of membrane depolarization and biogenic amines on the formation of cyclic AMP in incubated brain slices. Adv.Biochem.Psychopharmacol. 3 (1970), 135-171.
353. Shimizu, H., Ichishita, H., Teteishi, M., Umeda, I., Characteristics of the amino acid receptor site mediating formation of cyclic adenosine 3'5'-monophosphate in mammalian brains. Molc.Pharmacol. 11 (1975), 223-231.

354. Siegel, R., Conforti, N., Feldman, S., Chowers, I.,
Effects of neurogenic and systemic stresses on
hypothalamic and adeno-hypophysial c-AMP content.
Neuroendocrinology 14 (1974), 24-33.
355. Siggins, G.R., Hoffer, B.J., Bloom, F.E., Cyclic
adenosine monophosphate: possible mediator for
norepinephrine effects on cerebellar Purkinje
cells. Science 165 (1969), 1018-1020.
356. Siggins, G.R., Oliver, A.P., Hoffer, B.J., Bloom,
F.E., Cyclic adenosine monophosphate and norepi-
nephrine: effects on transmembrane properties
of cerebellar Purkinje cells. Science 171 (1971),
192-194.
357. Siggins, G.R., Henriksen, S.J., Analogs of cyclic
adenosine monophosphate: correlation of inhibi-
tion of Purkinje neurons with protein kinase
activation. Science 189 (1975), 559-560.
358. Sinanan, K., Keatinge, A.M.B., Beckett, P.G.S.,
Clayton Love, W., Urinary cyclic AMP in endoge-
nous and neurotic depression. Brit.J.Psychiat.
126 (1975), 49-55.
359. Singer, J.J., Goldberg, A.L., Cyclic AMP and trans-
mission at the neuromuscular junction. Adv.Biochem.
Psychopharmacol. 3 (1970), 335-341.
360. Singer, W., The effect of mesencephalic reticular sti-
mulation on intracellular potentials of cat lateral
geniculate neurons. Brain Res. 61 (1973), 35-54.

361. Singer, W., Lux, H.D., Presynaptic depolarization and extracellular potassium in the cat lateral geniculate nucleus. Brain Res. 64 (1973), 17-33.
362. Sjodin, R.A., Ion transport across excitable cell membranes. In: Biophysics and Physiology of Excitable Membranes. Ed. W.J. Adelman, Jr., V.N. Reinhold, New York (1973), 96-124.
363. Sjodin, R.A., Medici, A., Inhibitory effect of external sodium ions on the potassium pump in striated muscle. Nature 255 (1975), 632.
364. Skolnick, P., Daly, J.W., Norepinephrine sensitive adenylate cyclases in rat brain, relation to behavior and tyrosine hydroxylase. Science 184 (1974), 175-177.
365. Skolnick, P., Schultz, J., Daly, J.W., Repetitive stimulation of cyclic adenosine 3'5'-monophosphate formation by adrenergic agonists in incubated slices from rat cerebral cortex. J.Neurochem. 24 (1975), 1263-1266.
366. Skou, J.C., The influence of some cations on adenosine-triphosphatase from peripheral nerves. Biochim.Biophys.Acta 23 (1957), 394-401.
367. Smee, M.L., Weaton, P.F., Skinner, D., Day, T., Dose-related effects of central noradrenaline stimulation on behavioural arousal in rats. Psychopharmacol.Comm. 2 (1975), 123-130.

368. Snyder, S.H., Banerjee, S.P., Yamamura, H.I., Greenberg, D., Drugs, neurotransmitter and schizophrenia. Science 184 (1974), 1243-1253.
369. Somjen, G.G., Electrogenesis of sustained potentials. Prog.Neurobiol. 1 (1973), 201-237.
370. Somlyo, A.P., Somlyo, A.V., Friedmann, N., Cyclic adenosine monophosphate, cyclic guanosine monophosphate and glucagon: effects on membrane potential and ion fluxes in the liver. Ann.N.Y. Acad.Sci. 185 (1971), 108-114.
371. Somlyo, A.P., Somlyo, A.V., Smiesko, V., Cyclic AMP and vascular smooth muscle. Adv.Cycl.Nucl. Res. 1 (1972), 175-194.
372. Sonnhof, U., Grafe, P., Krumnikl, J., Linder, M., Schindler, L., Inhibitory postsynaptic actions of taurine, GABA and other amino acids on motoneurons of the isolated frog spinal cord. Brain Res. 100 (1975), 327-342.
373. Steiner, F.A., Neurotransmitter und Neuromodulatoren. Thieme Verlag, Stuttgart, 1971.
- 374a. Štefanac, Z., Simon, W., Ion specific electrochemical behavior of macrotetrolides in membranes. Microchem.J. 12 (1967), 125-321.

- 374b. Štefanac, Z., Simon, W., In-vitro-Verhalten von Makrotetroliden in Membranen als Grundlage für hochselektive kationenspezifische Elektroden-systeme. Chimia 20 (1966), 436.
375. Stone, T.W., Responses of blood vessels to various amines applied by microiontophoresis. J.Pharm. Pharmacol. 24 (1972), 318-323.
376. Stone, T.W., Noradrenaline effects and pH. J.Pharm. Pharmacol. 24 (1972), 422-423.
377. Stone, T.W., Pharmacology of pyramidal tract cells in the cerebral cortex. Naunyn Schmiedeberger Arch.Pharmacol. 278 (1973), 333-346.
378. Sutherland, E.W., Studies on the mechanism of hormone action. Science 177 (1972), 401-407.
379. Sypert, G.W., Ward, A.A., Jr., Unidentified neuroglia potentials during propagated seizures in neocortex. Exp.Neurol. 33 (1971), 239-255.
380. Takeuchi, A., Takeuchi, N., On the permeability of endplate membrane during the action of transmitter. J.Physiol. (Lond.) 154 (1960), 52-67.
381. Takeuchi, A., Takeuchi, N., Changes in potassium concentration around motor nerve terminals produced by current flow, and their effects on neuromuscular transmission. J.Physiol. (Lond.) 155 (1961), 46-58.

382. Thomas, R.C., Membrane current and intracellular sodium changes in a snail neurone during extrusion of injected sodium. J.Physiol. 201 (1969), 495-514.
383. Thomas, R.C., Intracellular pH of snail neurones measured with a new pH sensitive glass microelectrode. J.Physiol. 238 (1974), 159-180.
384. Tissari, A.H., Bogdanski, D.F., Biogenic amine transport. VI. Comparison of effects of ouabain and K^+ deficiency on the transport of 5-hydroxytryptamine and norepinephrine by synaptosomes. Pharmacology 5 (1971), 225-234.
385. Tomita, T., Watanabe, H., A comparison of the effects of adenosine triphosphate with noradrenaline and with the inhibitory potential of the guinea-pig taenia coli. J.Physiol. 231 (1973), 167-177.
386. Torda, C., Effect of cyclic adenosine 3'5'-monophosphate on synaptic spike generation. Adv.Cycl.Nucl.Res. 1 (1973).
387. Trabucchi, M., Spano, P.F., Dopamine receptors in the CNS: role of c-AMP and c-GMP. Exp.Brain Res. Suppl. 23 (1975), Abs. 397.
388. Triner, L., Vulliemoz, Y., Verosky, M., Nahas, G.G., Acetylcholine and the cyclic AMP system in smooth muscle. Adv.Cycl.Nucl.Res. 2 (1973).

389. Ungerstedt, U., 5-hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurones. Eur.J.Pharmacol. 5 (1968), 107-110.
390. Unyi, G., Schaefer, A., Csaky, L., Pfeifer, A.K., Characterization of the ATP dependent ^3H -Noradrenaline and ^3H -dopamine uptake and ATPase activity of the rat brain. In: Symposium on Pharmacological Agents and Biogenic Amines in the Central Nervous System, Ed. Knoll, J., Magyar, K., (1973), 75-79. Akademiai Kiado, Budapest.
391. Uzunov, P., Weiss, B., Psychopharmacological agents and the cyclic AMP system of rat brain. Adv. Cycl.Nucl.Res. 1 (1972), 435-453.
392. Vapaatalo, H., Heikkinen, E.R., Myllylä, V.V., Hokkanen, E., Cerebrospinal fluid (CSF) in neurological diseases. Exp.Brain Res. Suppl. 23 (1975), Abs. 408.
393. Vieth, J.B., Glückert, K., Postsynaptic inhibition in pyramidal cells of cats motor cortex induced by locally applied substances. Pflügers Arch. 347 (1974), Suppl.
394. Voigtlander, P.F., von, Boukma, S.J., Johnson, G.A., Dopaminergic denervation supersensitivity and dopamine stimulated adenyl cyclase activity. Neuropharmacology 12 (1973), 1081-1086.

395. Vyskočil, F., Kříž, N., Bureš, J., Potassium-selective microelectrodes used for measuring the extracellular brain potassium during spreading depression and anoxic depolarization in rats. Brain Res. 39 (1972), 255-259.
396. Vyskočil, F., Kříž, N., Modification of single and double barrel potassium specific microelectrodes for physiological experiments. Pflügers Arch. 337 (1972), 265-276.
397. Vyklický, L., Syková, E., Kriz, N., Ujec, E., Post-stimulation changes of extracellular potassium concentration in the spinal cord of the rat. Brain Res. 45 (1972), 608-611.
398. Wang, P., Clausen, T., Treatments of attacks in hyperkaliaemic familial periodic paralysis by inhalation of solbutamol. Lancet (1976), 221-223.
399. Walker, J.B., The effect of lithium on hormone-sensitive adenylate cyclase various regions of the rat brain. Biol.Psychiatry 8 (1975), 245-252.
400. Walker, J.L., Jr., Brown, A.M., Unified account of the variable effects of carbon dioxide on nerve cells. Science 167 (1970), 1502-1504.
401. Walker, J.L., Jr., Ion specific liquid ion exchanger microelectrodes. Anal.Chem. 43 (1971), 89A-93B.
402. Weinryb, I., Michel, I.M., Cyclic nucleotides vs. adenosine analogs as inhibitors of adenylate cyclase activity: nonidentity of sites of action. Experientia 31 (1975), 892-893.

403. Westfall, T.C., Effect of acetylcholin on the release of ^3H Norepinephrine by nicotine and potassium chloride from rat brain slices. In: Frontiers in Catecholamine Research. Ed. Usdin, E., Snyder, S.H. (1973), 617-618. Pergamon New York.
404. Westfall, T.C., Effect of muscarinic agonists on the release of ^3H -norepinephrine and ^3H -dopamine by potassium and electrical stimulation from rat brain slices. Life Sci. 14 (1974), 1641-1652.
405. Wexler, B., Ketzman, R., Effects of dibutyryl cyclic AMP on tyrosine uptake and metabolism in neuroblastoma cultures. Exp.Cell Res. 92 (1975), 291-298.
406. Wolfe, L.S., Possible roles of prostaglandins in the nervous system. Adv.Neurochem. 1 (1975), 1-48.
407. Wood, J.D., The role of γ -aminobutyric acid in the mechanism of seizures. Prog.Neurobiol. 5 (1975), 77-95.
408. Wood, J.D., Peesker, S.J., The anticonvulsant action of GABA-elevating agents: a re-evaluation. J.Neurochem. 25 (1975), 277-282.
409. Yarbrough, G.G., Lake, N., Phillis, J.W., Calcium antagonism and its effect on the inhibitory actions of biogenic amines on cerebral cortical neurones. Brain Res. 67 (1974), 77-88.

410. Zuckermann, E.C., Glaser, G.H., Slow potential shifts in dorsal hippocampus during epileptogenic perfusion of the inferior horn with high-potassium CSF. Electroenceph.Clin.Neurophys. (1970), 236-246.
411. Zadunaisky, J.A., Active transport of chloride in frog cornea. Amer.J.Physiol. 211 (1966), 506-512.
412. Zadunaisky, J.A., Ion pumps in the cornea and their stimulation by epinephrine and cyclic AMP. Exp.Eye Res. 15 (1973), 577-584.
413. Zwillich, C.W., Sutton, F.D., Neff, T.A., Cohn, W.M., Matthey, R.A., Weinberger, M.M., Theophylline induced seizures in adults. Ann.Int.Med. 82 (1975), 784-787.

Lebenslauf

Geboren am 7.11.1945 in Tübingen als Sohn des
Arztes Josef Zander und seiner Ehefrau Traut
Zander, geb. Barends. Aufgewachsen in Berlin.
Dort Volksschule und Oberschule besucht. Abitur
im März 1965 an der Schadow-Schule, Berlin 37,
abgelegt. Studium der Humanmedizin an der FU
Berlin bis zum Physikum. 1967/68 Beginn des
klinischen Studiums in Heidelberg. Staatsexamen
im Sommer 1971 in München. Medizinalassistent
an der II. Chirurg. Abteil. des Krankenhauses
München-Schwabing, am Rudolf-Virchow-Krankenhaus
Berlin, an der Med. Poliklinik München und an der
Neurochirurg. Abteil. des Krankenhauses R.d.Isar,
München. Amerikanisches Staatsexamen (ECFMG) 1972.
Approbation 18.12.1972. 1.1.1973 bis 31.7.1974
Promotionsarbeit im Max-Planck-Institut für Psychia-
trie, neurophysiologische Abteilung. Seit 1.8.1974
Assistent an der Psychiatrischen Klinik der Univ.
München.

München, Juli 1976

Karl-Joachim Zander

